Análisis histológico sobre el desarrollo y maduración del ovario en *Baeacris punctulatus* (Thunberg) (Orthoptera: Acrididae: Melanoplinae)

Michel, Adriana A.

Instituto de Morfología Animal, Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251, 4000 San Miguel de Tucumán, Argentina. e-mail: adrianaazucenamichel@hotmail.com

RESUMEN — *Baeacris punctulatus* es una de las especie de Melanoplinae considerada de importancia económica para la Argentina. Los ovarios de insectos están sujetos a cambios en su anatomía, morfología y ultraestructura durante toda la vida del animal. Los estudios histológicos sobre desarrollo y maduración de las gónadas en Acrididae de Sudamérica son escasos. El objetivo de este trabajo es proveer información sobre el proceso de morfogénesis del ovario y la ovogénesis durante el desarrollo embrionario, postembrionario y el imago. Las hembras de *Baeacris punctulatus* obtenidas en cautiverio se fijaron en Bouin y se conservaron en alcohol n-butílico. Los ejemplares completos se incluyeron en paraplast. Se realizaron cortes seriados de 6 µm de espesor. Los cortes se colorearon con Hematoxilina-Eosina, Tricrómico de Mallory y Hematoxilina de Verhoeff. Los resultados demostraron que en esta especie los ovarios se diferencian en el Estadio Embrionario X, identificándose en cada ovariola el *germario* con ovogonias en mitosis. La meiosis ovogonial se inicia antes de la eclosión de las ninfas. Los ovocitos primarios pasan por tres periodos de crecimiento: el primer periodo abarca desde el Estadio Embrionario XI al Ninfal II, se desarrolla en el germario e incluye desde preleptonema al paquinema. El segundo periodo abarca desde el Estadio Ninfal II a los 5 días de imago, se desarrolla en el *vitelario* e incluye el subestadio de postpaquinema y estadios de previtelogénesis del diplonema. El tercer periodo de crecimiento abarca desde los 5 a los 15 días de imago, incluye los estadios de vitelogénesis hasta la síntesis de cubiertas externas del ovocito, la envoltura vitelina y el corion. Entre los 15 y 25 días del imago se producen las primeras ovulaciones y en este periodo la hembra alcanza la madurez sexual. Estos resultados aportan datos sobre la biología reproductiva de *Baeacris punctulatus*, los cuales pueden contribuir a un mejor manejo de esta especie.

Palabras claves: *Baeacris punctulatus*, Orthoptera, Acrididae, Melanoplinae, Ovogénesis, Histología.

ABSTRACT — “Histological analysis of the development and maturation of ovaries in *Baeacris punctulatus* (Thunberg) (Orthoptera, Acrididae, Melanoplinae)”. *Baeacris punctulatus* is a Melanoplinae species of economical importance in Argentina. During the life of an insect, ovaries undergo changes characterized by morphological and phisiological cell alterations. Histological studies of the development and maturation of gonads in South American Acrididae are rare. The objective of this study is to provide information on the morphogenesis of the ovary and oogenesis during the embrionic, postembrionic and the imago stage of development. Captive females *Baeacris punctulatus* were obtained. They were fixed in Bouin and preserved in n-butilic alcohol. Specimens were placed in “paraplast” and 6 µm-thick segments were stained with Hematoxylin-Eosin, Trichrome of Mallory and Hematoxylin of Verhoeff. Results show that in this species, ovaries differentiate in the embryonic stage X, observing in the ovarioles the germarium with oogonia in mitosis. The oogonial meiosis begins before the hatching of the nymphs. The primary oocytes go through three stages of development. The first stage takes place between the embryonic stage XI and nymphal stage II. It develops in the germarium and it includes from preleptonema to paquinema. The second period goes from nymphal stage II to five days of the adult stage and it occurs in the vitelarium that includes the substage of postpaquinema and stages of previtellogenesis of the diplonema. The third period occurs between the fifth and fifteen days of the imago and it includes stages of vitellogenesis up to the synthesis

Recibido: 20/10/08 – Aceptado: 28/05/09

of external covers, vitelline cover and corium. The first ovulations occur between the fifteenth and twenty-fifth day. It is during this period that the female reaches sexual maturity. These results provide information on the reproductive biology of *B. Punctulatus*, which may contribute to better species management.
Key Words: *Baeacris punctulatus*, Orthoptera, Acrididae, Melanoplinae, Oogenesis, Histology.

INTRODUCCIÓN

La especie *Baeacris punctulatus* (Thunberg) forma parte del grupo "punctulatus" del género *Baeacris*. En este grupo se incluyen un conjunto de especies crípticas con una amplia distribución en Sudamérica, de aspecto exterior uniforme pero fácilmente separables por su distribución geográfica y los caracteres derivados de la genitalia del macho. Estas especies son en general de tamaño pequeño, de forma frágil y elegante sobre todo el macho, ya que las hembras son más robustas y grandes. En su coloración predominan los colores castaño y pardo, siendo las tibias posteriores de color rojo vivo (Carbonell y Ronderos, 1973). Dentro del grupo "punctulatus" y aún del género, *Baeacris punctulatus* es la especie de mayor distribución geográfica, ya que ocupa todo el territorio de América del Sur al este de los Andes, desde Colombia hasta Argentina (Bentos Pereira, 1989; Ronderos y Cigliano, 1991).

Baeacris punctulatus es una de las especies de Melanoplinae considerada de importancia económica para Argentina (Liebermann y Schiuma, 1946). Así mismo, se ha comprobado que en esta especie de desarrollo continuo, con diapausa embriónica facultativa (Michel y Terán, 2006), la hembra presenta una gran susceptibilidad a agentes de control biológico, siendo ésta sustrato adecuado para la esporulación de microsporidios en el cuerpo graso. En insectos, el volumen del cuerpo graso en la hembra adulta está directamente relacionado con el desarrollo y maduración del ovario (Villeco, 1998; Lange, 2002, 2003; Albert *et al*., 2004).

En condiciones de cría óptimas para su desarrollo, en *B. puntulatus* el desarrollo embrionario tiene una duración media de 20 días, que incluyen 11 estadios determinados por cambios morfogenéticos producidos desde la puesta hasta la eclosión de las ninfas. La duración media del desarrollo postembrionario en el macho es de 28 días, mientras que para la hembra la duración media es de 30 días. En ambos sexos el desarrollo postembrionario incluye 5 estadios ninfales desde la eclosión de las ninfas hasta la muda imaginal, determinados por el análisis del desarrollo de pterotecas y genitalias externas. Los adultos matenidos en cámara de cría tuvieron una longevidad máxima de 70 días. La primera cópula se produce entre los 2 y 12 días después de la muda imaginal y la primera puesta 10 días después de la cópula (Michel y Terán, 2006).

Aunque se realizaron estudios histológicos de gónadas en especies sudamericanas de Acridoidea, como los de Cruz-Landim (1994) en *Conocephalus saltador* (Saussure) (Orthoptera, Conocephalidae), Ferreira *et al*. (2006) en *Cromacris speciosa* (Thunberg) (Orthoptera, Romaleidae) y Santos *et al*. (2006) en *Tropidacris collares* (Stoll) (Orthoptera, Romaleidae), los estudios histológicos sobre desarrollo y maduración de las gónadas en especies de Acrididae de Sudamérica son escasos. Entre los trabajos que realizan este tipo de estudios, se puede mencionar el realizado por Michel (2007) sobre desarrollo del testículo y espermatogénesis en *Baeacris punctulatus*.

En *Baeacris punctulatus*, la gónada de la hembra está constituida por un par de ovarios ubicados por encima del tubo digestivo. Cada ovario esta constituido por 10 ovariolas panoísticas, es decir carecen de células nutricias especiales (trofocitos) y el epitelio folicular es el único tejido trófico presente. Cada ovariola, limitada externamente por una capa de células epiteliales planas, está formada por tres regiones: el filamento terminal que se une a la pared del cuerpo a tra-

vés del ligamento suspensorio, el tubo de huevos en el cual se desarrolla la línea germinal y un corto pedicelo que desemboca en el oviducto lateral. El tubo de huevo está formado por el *germario* en el extremo distal, con ovogonias y ovocitos en las primeras etapas de la profase I de la meiosis, dispuestos en forma irregular y rodeados por tejido prefolicular y el *vitelario* en la región media y proximal, con ovocitos en las diferentes etapas de previtelogénesis y vitelogénesis, dispuestos linealmente y rodeados por una capa continua de células foliculares (Michel y Terán, 2005).

Los ovarios de insectos están sujetos a cambios en su anatomía, morfología y ultraestructura durante toda la vida del animal (Büning, 1994). Considerando que *Baeacris punctulatus* es una de las especies de Melanoplinae de importancia económica para Argentina y que los estudios sobre morfogénesis de la gónada y gametogénesis en Acrididae de Sudamérica son escasos, el objetivo de este trabajo es proveer información sobre el proceso de morfogénesis del ovario y la ovogénesis durante el desarrollo embrionario, postembrionario y en el imago.

Para cumplir con los objetivos planteados se realizó un estudio exhaustivo en cortes seriados de ejemplares fijados enteros, en diferentes tiempos desde el momento de la puesta hasta los 30 días de imago, lo que permitió obtener una imagen tridimensional de los cambios morfológicos producidos en los ovarios durante su desarrollo. Por un lógico problema de espacio, solamente se han incluído las figuras más representativas de los proceso descripto. Los aspectos cualitativos que éstas representan constituyen una síntesis de la gran cantidad de información obtenida.

MATERIAL Y MÉTODOS

La cría de la especie se llevó a cabo a partir de desoves obtenidos de adultos silvestres capturados con redes entomológicas, en áreas destinadas al pastoreo y banquinas del Km. 28 y 29 de Ruta provincial N° 340 (Tucumán) y mantenidos en el laboratorio a temperatura ambiente (20 ± 2° C) en jaulas provistas de desovadores. La incubación de los desoves y el mantenimiento de las crías se realizó en una cámara con un ambiente regulado a 30 ± 1° C, entre 50 y 70% de humedad relativa y un fotoperíodo de 14 horas luz. La alimentación de los adultos silvestres y de ninfas y adultos obtenidos en cautiverio se realizó con hojas frescas de *Taraxacum officinale*. Los ejemplares de referencia se encuentran depositados en la Colección Entomológica del Instituto-Fundación Miguel Lillo (IFML), Tucumán, Argentina.

Para el estudio histológico, durante el desarrollo embrionario se tomaron muestras de 3 huevos cada una, cada 3 horas durante el primer día y luego cada 24 horas, extrayéndose hasta 3 muestras por vez. Mientras que para el estudio durante el desarrollo postembrionario, se tomaron muestras de 2 ejemplares hembras cada 48 horas desde el momento de la eclosión de las ninfas hasta la muda imaginal. Para el estudio en el imago, se tomaron muestras de 2 hembras cada una a las 24, 48, 72 y 120 horas de la muda imaginal y luego cada 5 días hasta los 30 días del imago. Además se tomaron muestras de hembras vírgenes, durante la cópula, y a las 12, 24 y 48 horas después de la primera cópula y en el momento de la puesta. La obtención de ejemplares de *Baeacris punctulatus* en las diferentes etapas del desarrollo se realizó considerando los estadios de desarrollo establecidos por Michel y Teisaire (1996) y Michel y Terán (2006).

Los ejemplares completos se fijaron en Bouin (solución acuosa saturada de ácido pícrico, formol puro y ácido acético 70: 25: 5) durante 24 horas. Se deshidrataron en una batería ascendente de etanol y se conservaron en alcohol n-butílico. Las hembras se incluyeron en paraplast y se realizaron cortes seriados de 6 μm de espesor con orientación sagital y frontal. Se coloreó con hematoxilina de Erlich-eosina (H-E) (Geurr, 1956 citado por Humason, 1979), hematoxilina de Verhoeff (H.V.) (según Mallory, 1944 citado por Humason, 1979) y tricrómico de Mallory (Azan) Heidenhain (M.A.) (Modificado por Konef, 1938, citado por Humason, 1979). Las observaciones se realizaron con

un microscopio Leitz-Dialux 20 2B y las microfotografías se tomaron con una cámara Miranda acoplada con adaptador al tubo monocular de fotografías.

RESULTADOS

1. MORFOGÉNESIS DEL OVARIO Y OVOGÉNESIS EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO

Estadio Embrionario X (17 a 18 días después de la puesta).— En *Baeacris punctulatus*, los ovarios se identifican por su organización estructural recién a partir del Estadio X del desarrollo embrionario, en posición dorsal al tubo digestivo, desde la mitad del 2° segmento abdominal al 4° inclusive, siendo rodeados por abundante tejido graso. En cada ovario, se pueden distinguir una región dorsal y anterior en la cual se observan 10 grupos celulares dispuestos linealmente en sentido longitudinal. En corte transversal, cada uno de estos grupos está formado por 6 ovogonias dispuestas en forma irregular y rodeadas por 2 o 3 células mesodérmicas alargadas que forman una capa continua alrededor de las mismas. Las ovogonias son células pequeñas con un diámetro de 7,5 μm, con grandes núcleos de forma esférica u ovoidea y escaso citoplasma levemente basófilo. La mayor parte de las ovogonias se encuentran en interfase, ya que en sus núcleos la heterocromatina está condensada en gránulos gruesos y separados y la eucromatina se presenta en forma de finas hebras que cubren completamente el nucleoplasma; siendo escaso el número de ovogonias que han comenzado a dividirse mitóticamente (Fig. 1). Cada uno de estos grupos celulares constituye el *rudimento del germario* de las ovariolas en desarrollo.

En la región ventral y hacia la línea media del cuerpo, en cada ovario se observa un cordón continuo de células grandes, redondeadas, levemente basófilas, dispuestas en forma lineal y rodeadas por numerosas células mesodérmicas. Estas células tienen un diámetro que oscila entre 10,5 y 12 μm, presentan un núcleo grande y esférico, rodeado por escaso citoplasma granular levemente basófilo y la cromatina condensada en gránulos gruesos y separados. Por el tamaño y las características del núcleo, estas células corresponden a preovocitos, ya que se encuentran en una etapa previa a la iniciación de la meiosis, es decir, en un período de replicación del DNA o fase S de la interfase premeiótica. Este cordón de células ventrales de cada ovario constituye el *rudimento del vitelario*, a partir del cual se formará el vitelario al completarse el desarrollo de la ovariola (Tabla 1, al final del trabajo). Las células mesodérmicas que rodean a la región ventral de cada ovario se prolongan en dirección cefálica en un delgado cordón que constituye el esbozo de la glándula accesoria de la hembra y en dirección caudal en un cordón que forma el esbozo de la porción gonádica del oviducto lateral de cada lado del cuerpo.

Estadio Embrionario XI (20 a 21 días después de la puesta).— En este estadio, cada ovario está constituido por 10 ovariolas completamente diferenciadas y rodeadas por una delgada capa de células mesodérmicas aplanadas que constituyen la membrana limitante externa, la cual se prolonga distalmente en un delgado y corto cordón celular que corresponde al filamento terminal de la mismas. Las ovariolas son ligeramente alargadas, con un diámetro menor en el extremo distal de las mismas, ubicado en la región dorsal de cada ovario y rodeado por abundante tejido graso, mientras que el extremo proximal de la ovariola de mayor diámetro se ubica en la región ventral del ovario y está limitado solamente por una delgada capa de células mesodérmicas.

En estas hembras, las ovogonias ubicadas en el extremo distal de cada ovariola se encuentran en activo proceso de división celular, observándose numerosos núcleos en profase y metafase mitótica. Al mismo tiempo en la región ventral de la ovariola se ha reducido el número de preovocitos y en cambio se observan numerosas células esféricas ligeramente mayores, con grandes núcleos rodeados por escaso citoplasma levemente basófilo y cromosomas en diferentes grados de condensación en el interior de los mis-

mos, lo que indicaría el inicio del estadio de profase I de la meiosis (Fig. 2). Dichas células corresponden a ovocitos primarios en los siguientes subestadio: a) en preleptonema con un diámetro aproximado de 16,5 μm, en la etapa inicial de la condensación cromosómica con cromosomas largos y delgados que forman un ovillo compacto intensamente basófilo en el interior del nucleoplasma, b) células en leptonema con un diámetro de aproximadamente 18 μm, con el núcleo menos basófilo y cromosomas más condensados que se presentan como finas hebras con pequeños engrosamientos (cromómeros) dispuestos en forma de cuentas de collar, y c) en menor número se observan ovocitos primarios en cigonema, de un tamaño ligeramente mayor aproximadamente 19,5 μm y en sus núcleos se visualizan cromosomas como cintas largas y delgadas levemente basófilos, indicando el apareamiento progresivo de cromosomas homólogos parcialmente condensados. La ligera variación en tamaños indicaría que estos ovocitos se encuentran en el "primer periodo de crecimiento" (Tabla 1).

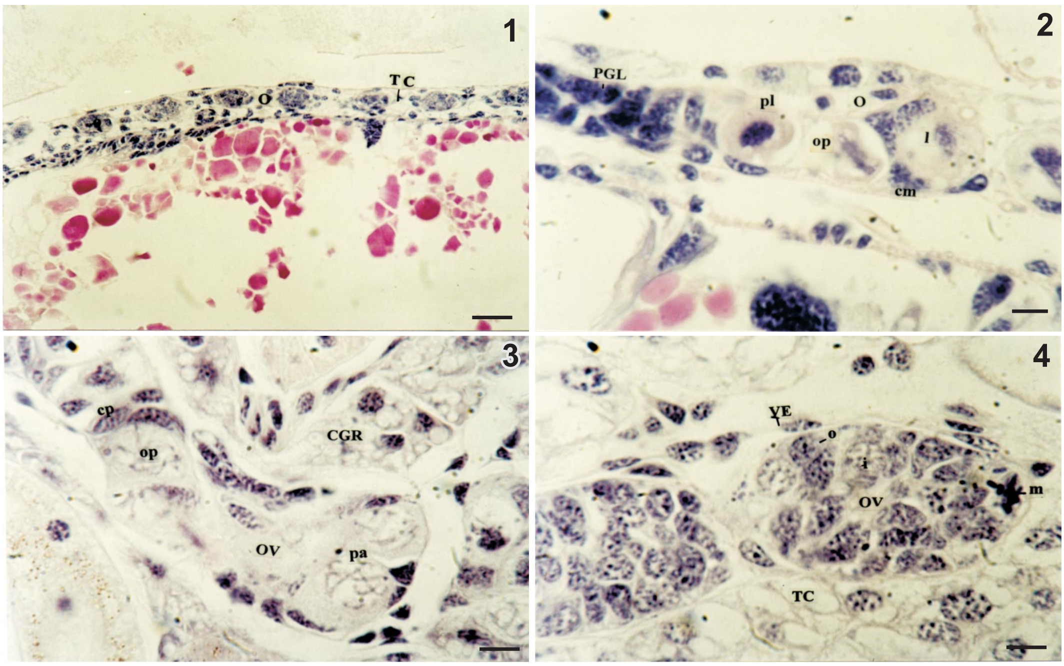


Figura 1: Corte sagital de la hembra de *Baeacris punctulatus* en el Estadio Embrionario X, se observa la región dorsal del ovario **(O)** con esbozos de ovariolas **(OV)** separados por abundante tejido graso **(TC).** Cada ovariola está constituida por grupos de ovogonias **(o)** dispuestas en forma irregular, rodeados por una delgada capa de células mesodérmicas. H-E. Barra = 18,2 µm.

Figura 2: Corte sagital de la región ventral del ovario **(O)** en el Estadio Embrionario XI, en continuidad con el esbozo de la porción gonádica del oviducto lateral **(PGL)**. Se observa el extremo proximal de las ovariolas separados por una delgada capa de células mesodérmicas **(cm)** y en su interior ovocitos primarios **(op)** en preleptonema **(pl)** y leptonema **(l)**. H-E. Barra = 1,2 µm.

Figura 3: Corte sagital del ovario en el Estadio Ninfal I, se observa la región proximal de las ovariolas **(OV)** rodeada por células mesodérmicas y cuerpo graso **(CGR)**. En el interior de la ovariola se identifican grupos de ovocitos primarios **(op)** en paquinema **(pa)** rodeados por células prefoliculares **(cp)**. H-E. Barra = 1,2 µm.

Figura 4: Región distal de las ovariolas **(OV)** de un ejemplar en el Estadio Ninfal II, limitada por la vaina externa **(VE)** de células mesodérmicas y tejido graso **(TC)**. En el interior de la ovariola, se observan ovogonias **(o)** en interfase **(i)** y metafase mitótica **(m)**. H-E. Barra = 1,2 µm.

2. Morfogénesis del ovario y ovogénesis en el desarrollo postembrionario

Estadio Ninfa I (1 a 6 días después de la eclosión de las ninfas).— Al comienzo del desarrollo postembrionario, los ovarios son ligeramente alargados, se ubican en posición dorsal al tubo digestivo, y abarcan desde el 2° al 4° segmento abdominal inclusive. En cada ovario se distinguen claramente 10 ovariolas completamente diferenciadas, alargadas y en forma de huso, dispuestas en forma paralela y separadas por una delgada capa de tejido graso. En estas hembras, cada ovariola está formada por un delgado filamento terminal, que se prolonga hasta el extremo posterior y dorsal del primer segmento abdominal; y el *germario* está limitado externamente por una delgada vaina externa de aproximadamente 8 células epiteliales en corte transversal.

En la región distal del *germario*, se observan por corte transversal aproximadamente 14 ovogonias dispuestas en forma irregular, la mayoría de las cuales se encuentran en interfase mitótica y un número reducido de ellas, en las restantes etapas de la mitosis. En la región media y proximal se observan 2 preovocitos y 6 u 8 ovocitos primarios en preleptonema, leptonema y cigonema dispuestos en forma irregular. A continuación de estas células, en la región basal del *germario*, se observan 2 ovocitos primarios en paquinema inicial de aproximadamente 21 μm de diámetro. Estas células son esféricas con un núcleo grande claro y escaso citoplasma levemente basófilo alrededor del mismo. En el interior del núcleo se observan cromosomas largos y anchos como cintas, levemente basófilos y con escasos centrómeros visibles entre ellos (Fig. 3).

Al finalizar el primer estadio ninfal, se observa un ligero aumento de longitud de las ovariolas, aumentando el número de ovogonias a 20 por corte transversal en el extremo distal de las mismas, mientras que en el extremo proximal, se observan 2 ovocitos primarios en paquinema avanzado. En el núcleo de estos ovocitos se observan cromosomas más cortos y de una basofilia más intensa que en la etapa inicial de este subestadio. En el extremo de cada cromosoma se observan gránulos fuertemente basófilos que corresponden a los centrómeros de cromátidas hermanas. En estas hembras, el diámetro de los ovocitos primarios en los diferentes subestadios de la profase I de la meiosis varía entre 14 y 21 μm, desde el extremo distal al proximal del *germario*, y forman nidos de 2 a 4 células rodeados por 3 a 4 células prefoliculares de forma alargada con grandes núcleos ovoideos fuertemente basófilos (Tabla 1, Fig. 3).

Estadio Ninfal II (7 a 12 días después de la eclosión de las ninfas).— Al comienzo del estadio Ninfal II, en el *germario* de cada ovariola se observan las mismas cantidades y tipos celulares del estadio anterior, pero en estos ejemplares las ovogonias próximas al filamento terminal se disponen en forma irregular, mientras que las de la región basal de la ovariola forman grupos de 2 a 6 células. Cada grupo está limitado externamente por células prefoliculares dispuestas en forma desordenada. En ambas zonas, la mayoría de las ovogonias se encuentra en interfase, profase o prometafase mitótica y solo algunas en metafase (Fig. 4). Entre los ovocitos primarios que ocupan el resto del germario, se observan “núcleos picnóticos”, que probablemente correspondan a restos de ovogonias en degeneración que no se diferenciaron en ovocitos (Fig. 5).

Al finalizar este estadio, las ovariolas presentan una mayor longitud, observándose en el extremo distal del *germario* aproximadamente 30 ovogonias por corte transversal, de las cuales las que se disponen en forma irregular están en interfase, mientras que las restantes que forman nidos se encuentran principalmente en metafase, anafase y telofase mitótica. En el extremo proximal de cada ovariola y a continuación del germario, comienza a formarse el *vitelario*, ya que por primera vez se observan ovocitos primarios en el subestadio de postpaquinema dispuestos en forma lineal y rodeados cada uno de ellos por 5 o 6 células prefoliculares (Tabla 1). Estos ovocitos (5 o 6 por cada ovariola) son células ligeramente más grandes que las del subestadio anterior,

ya que presentan una variación del diámetro de 21 a 24 μm que se manifiesta tanto en la cantidad de citoplasma basófilo como en el tamaño de la vesícula germinal. En estos ovocitos, los cromosomas no son visibles y la cromatina es difusa y forma grandes acúmulos en el nucleoplasma. Estas células, por su imagen nuclear, se encuentran en una etapa intermedia entre el subestadio de paquinema y el de diplonema, y correspondería al inicio del “segundo período de crecimiento” del ovocito.

Estadio Ninfal III (13 a 16 días después de la eclosión de las ninfas).— En este estadio en cada ovario, se observa un aumento de longitud de las ovariolas, las cuales están separadas entre sí por una delgada vaina externa y todas ellas rodeadas por abundante tejido graso. En cada ovariola se distingue en la región distal, el filamento terminal y el *germario*, y en la región media y proximal, el *vitelario*. En el *germario* se observan ovogonias con escasa actividad mitótica, ya que la mayoría se encuentra en el periodo de interfase, y ovocitos primarios en el “primer periodo de crecimiento” (preleptonema, leptonema, cigonema, paquinema inicial y avanzado), los cuales al igual que en el estadio ninfal II, forman grupos de 2 a 4 células rodeados por 3 a 4 células prefoliculares cada uno. En el *vitelario* se observan ovocitos primarios en el “segundo periodo de crecimiento”, los cuales se disponen en forma lineal y aumentan progresivamente de tamaño hacia el extremo proximal de la ovariola, observándose primero 2 o 3 ovocitos esféricos en postpaquinema y rodeados cada uno o de a pares por 2 o 3 células prefoliculares y luego 4 a 8 ovocitos primarios al comienzo del subestadio de diplonema de la meiosis, los cuales serán considerados en este trabajo como ovocitos en el estadio previtelogénico I (Tabla 1, Fig. 6). En esta etapa de la ovogénesis (diplonema), se produce la primera detención de la meiosis y los ovocitos primarios pasarán por diferentes estadios de previtelogénesis y vitelogénesis en los cuales se realizará la incorporación de diferentes moléculas y nutrientes que le permitirán alcanzar su tamaño definitivo.

Cada uno de los ovocitos en el estadio previtelogénico I está rodeado por una capa continua de 4 a 8 células foliculares aplanadas con grandes núcleos ovoideos fuertemente basófilos y escaso citoplasma alrededor de los mismos, que constituyen el esbozo de un folículo ovárico. Estos ovocitos previtelogénicos son de forma cúbica a esférica y presentan un aumento progresivo de tamaño que va desde 30 a 72 μm, lo que se manifiesta tanto en la cantidad de citoplasma como en el diámetro de la vesícula germinal. Dicha vesícula es grande (21 a 36 μm) y se ubica en el centro del ovocito, con una envoltura nuclear claramente visible. La cromatina es difusa y difícil de observar al microscopio óptico, ya que se presenta en forma de finas hebras y pequeñas condensaciones basófilas (cromómeros) que se distribuyen uniformemente en el jugo nuclear y aumentan en número a medida que aumenta el tamaño del ovocito. En la región central y próxima a la envoltura nuclear se observan de 4 a 8 “cuerpos proteinosos” que se identifican como acúmulos de diferentes tamaños constituidos por fina granulación basófila. Entre estos acúmulos se observan 2 o 3 macronucleolos formados por granulaciones fuertemente acidófilas y numerosos micronucleolos fuertemente acidófilos alrededor de estos últimos y próximos a la envoltura nuclear. El citoplasma de los ovocitos en el estadio previtelogénico I es basófilo finamente granular, observándose una disminución progresiva de la basofilia a medida que aumenta el tamaño de los mismos. En algunos casos, se observan pequeños gránulos fuertemente acidófilos próximos a la envoltura nuclear, que probablemente estén relacionados con la presencia de los cuerpos proteinosos ubicados dentro de la vesícula germinal. Tanto el aspecto de los cromosomas, como la presencia de los cuerpos proteinosos y el crecimiento de la masa celular, indican que estos ovocitos se encuentran en una etapa inicial del subestadio de diplonema de la meiosis (Tabla 2, al final del trabajo, y Fig. 6).

Estadio Ninfal IV (17 a 22 días después de la eclosión de las ninfas).— En este estadio,

los ovarios están rodeados por abundante cuerpo graso y han aumentado su volumen abarcando desde el 1° al 4° segmento abdominal. Cada ovariola está rodeada por una delgada capa de células epiteliales planas, con núcleos voluminosos que sobresalen del escaso citoplasma levemente acidófilo, que constituyen la vaina externa que separa tanto al germario como al vitelario del tejido graso circundante. La vaina externa se prolonga en el extremo distal de cada ovariola en un delgado filamento terminal, y todos los filamentos de un mismo ovario se unen distal y dorsalmente en la cavidad abdominal para formar el ligamento suspensorio que se une al diafragma dorsal. El ligamento suspensorio está formado por células alargadas cuyos núcleos ovoideos con la cromatina condensada en gránulos gruesos y separados, están rodeados por abundante citoplasma levemente acidófilo.

En el extremo distal del *germario*, a continuación del filamento terminal se observan aproximadamente 35 ovogonias, la mayoría de las cuales forman grupos de 4 o 5 células cada uno y se encuentran en interfase mitóti-

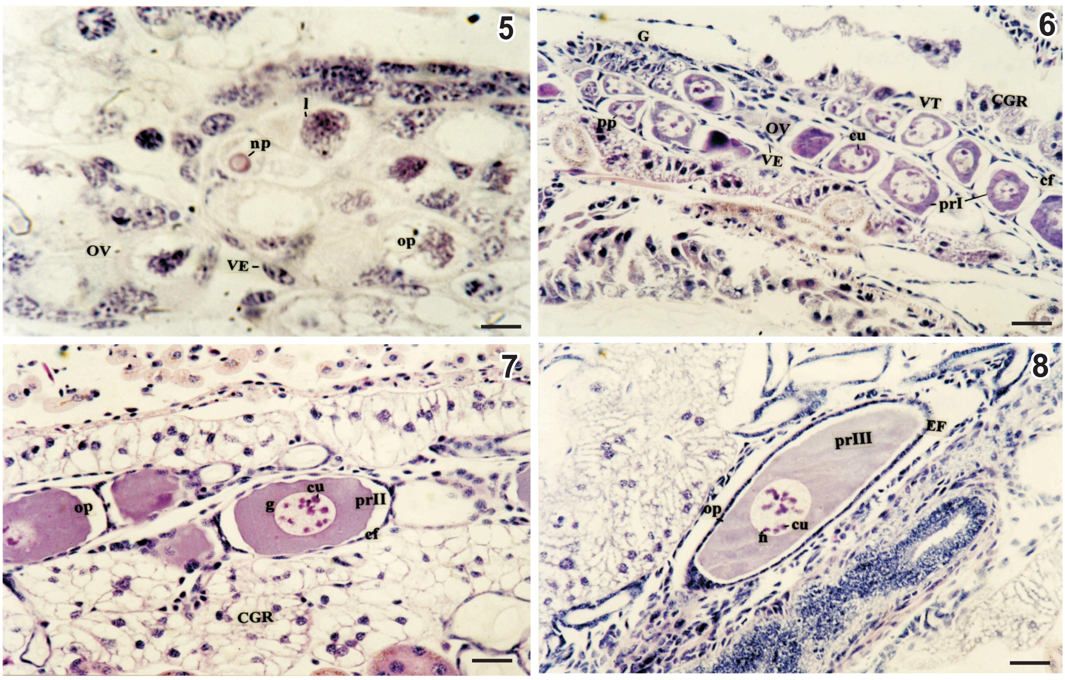


Figura 5: Región proximal de las ovariolas **(OV)** de un ejemplar en el Estadio Ninfal II. Entre los ovocitos primarios **(op)** en diferentes estadios de la primera división meiótica, se observan núcleos picnóticos **(np)**. H-E. Barra = 1,2 µm.

Figura 6: Corte sagital del ovario en el Estadio Ninfal III, se observan las ovariolas **(OV)** limitadas por la vaina externa **(VE)**. En cada ovariola, se identifica en la región distal se identifica el germario **(G)** y en la región media y proximal el vitelario **(VT)**. En el vitelario, se observan ovocitos en postpaquinema **(pp)** y en el estadio previtelogénico I **(prI)**. Se destacan los cuerpos proteinosos **(cu)** en la vesícula germinal de estos ovocitos. H-E. Barra = 18,2 µm.

Figura 7: Región proximal de las ovariolas en el Estadio Ninfal IV rodeada por abundante cuerpo graso **(CGR)**. Se observan folículos ováricos constituidos por una capa continua de células foliculares planas **(cf)**, con ovocitos en el estadio previtelogénico II **(prII)**. Se destaca la vesícula germinal **(g)** en posición central con numerosos cuerpos proteinosos **(cu)**. H-E. Barra = 18,2 µm.

Figura 8: Región proximal de la ovariola en el Estadio Ninfal V. Se observa un folículo basal rodeado por epitelio folicular simple **(EP)** y en su interior un ovocito primario en el estadio previtelogénico III **(prIII)**. En la vesícula germinal se destacan los nucleolos **(n)** entre los cuerpos proteinosos **(cu)**. H-E. Barra = 18,2 µm.

ca, observándose solo algunas células en los estadios de profase y metafase, mientras que en el extremo proximal se observan ovocitos primarios (en grupos de 2 o 3 células rodeados por células prefoliculares) en el primer período de crecimiento, de los cuales en cada corte pueden observarse aproximadamente 1 en preleptonema, 3 en leptonema y 5 en paquinema inicial y avanzado (Tabla 1).

En el *vitelario* además de los ovocitos primarios en postpaquinema (3 o 4) y en el estadio previtelogénico I (aproximadamente 10 células dispuestas linealmente), se observan 4 o 5 ovocitos en una etapa más avanzada de diplonema que será considerada como estadio previtelogénico II. Estos ovocitos son ligeramente ovoideos y aumentan de tamaño hacia el extremo proximal de la ovariola, con un diámetro mayor que oscila entre 72 y 120 μm. Estos ovocitos previtelogénicos no ocupan completamente la luz del folículo ovárico, el cual está constituido aproximadamente por 10 a 26 células foliculares alargadas con núcleos ovoides y abundante citoplasma basófilo entre ellos (Tabla 1, Fig. 7).

En los ovocitos en estadio previtelogénico II, la vesícula germinal es grande y esférica (42 a 54 μm), se ubica en el centro del mismo y está rodeada por una envoltura nuclear fuertemente basófila, observándose en ella una mayor cantidad de cromatina descondensada y de cromómeros que se distribuyen en forma homogénea sin llegar a cubrir completamente el jugo nuclear. En el interior de la vesícula germinal de estos ovocitos se observan aproximadamente 11 cuerpos proteinosos de menor tamaño que en el estadio anterior y 2 o 3 macronucleolos fuertemente acidófilos y numerosos micronucleolos ubicados entre los cuerpos basófilos o bien superpuestos con ellos. El citoplasma granular de estos ovocitos presenta una basófilia menor que en el estadio I de previtelogénesis, observándose pequeños gránulos fuertemente acidófilos próximos a la envoltura nuclear y algunos de menor tamaño en el resto del citoplasma (Tabla 2, Fig. 7).

Estadio Ninfal V (23 a 30 días después de la eclosión de las ninfas).— En este estadio, los ovarios están rodeados por gran cantidad de cuerpo graso, tubos de Malpighi y traqueolas, y entre las ovariolas se observa abundante tejido graso. En cada ovariola puede observarse claramente el límite entre *germario* y *vitelario*, marcado por una delgada capa de células prefoliculares, y dentro del *vitelario*, cada folículo ovárico está separado por 2 a 3 capas de células interfoliculares entre los ovocitos en el estadio previtelogénico I y de 6 a 8 capas entre los ovocitos en los estadios previtelogénicos II y III.

En estas hembras, el *germario* ocupa solo una pequeña zona del extremo distal de cada ovariola, observándose una importante reducción en el número de ovogonias (12 a 14 por corte longitudinal) y de actividad mitótica de las mismas, ya que la mayoría se encuentran en interfase y solo algunas en profase mitótica. A continuación de las ovogonias, en el extremo proximal del germario, se observan 6 a 8 ovocitos primarios en preleptonema y leptonema y 3 o 4 en paquinema. El *vitelario* en cambio abarca la mayor parte de la ovariola, observándose entre 15 y 16 ovocitos primarios en diferentes etapas del segundo periodo de crecimiento. En el extremo distal del vitelario, se observa la misma cantidad de ovocitos primarios en los subestadios de postpaquinema y diplonema (estadios previtelogénicos I y II) que en el cuarto estadio ninfal. Sin embargo, los ovocitos en el estadio previtelogénico II han aumentado de tamaño, llegando a tener los más grandes un diámetro mayor de 210 μm. Estos ovocitos ocupan completamente la luz del folículo ovárico, el cual llega a tener hasta 45 células foliculares en los más grandes. En el extremo proximal del *vitelario* (a continuación de los ovocitos anteriores), se observan 3 o 4 ovocitos alargados (con un diámetro mayor que oscila entre 222 y 288 μm) en una etapa posterior del subestadio de diplonema, la cual será considerada como estadio previtelogénico III (Tabla 1). Estos ovocitos ocupan completamente la luz del folículo ovárico, el cual está constituido por un epitelio cúbico simple de 45 a 65 células en activa división. Las células foliculares de estos folículos, con limites celulares clara-

mente visibles, presentan grandes núcleos esféricos con la cromatina condensada en gránulos gruesos y finos y escaso citoplasma granular basófilo alrededor de los mismos. El epitelio folicular descansa sobre una lámina basal fuertemente acidófila, que está en íntimo contacto con la vaina externa de cada ovariola y correspondería a la túnica propia.

En los ovocitos en el estadio previtelogénico III, la vesícula germinal, delimitada por una envoltura nuclear fuertemente basófila, alcanza un diámetro de 60 μm y está ligeramente desplazada al extremo posterior del ovocito. En el interior de la vesícula germinal, la cromatina está completamente descondensada, ya que se presenta en forma de finas y abundantes hebras con numerosas condensaciones basófilas (cromómeros), que cubren completamente el jugo nuclear dando la imagen de *cromosomas plumulados*. Entre la cromatina, se observan 6 a 7 cuerpos proteinosos pequeños y compactos, y 3 a 4 nucleolos granulares fuertemente acidófilos, ambas estructuras ubicadas preferentemente en el centro de la vesícula germinal (Fig. 8).

El ooplasma de los ovocitos en el estadio previtelogénico III está constituido por finas y abundantes granulaciones basófilas que le confieren una basofilia menor a la observada en los ovocitos de estadios anteriores, donde la granulación es más gruesa y menos abundante. En el ooplasma perinuclear, al igual que en los otros estadios de previtelogénesis, se observa pequeños gránulos fuertemente acidófilos próximos a la envoltura nuclear. En el ooplasma perinuclear y rodeando a la vesícula germinal de algunos de estos ovocitos se puede observar además una o más vesículas grandes o “núcleos accesorios”, con una envoltura idéntica a la envoltura nuclear del ovocito y en cuyo interior se observan pequeños acúmulos de material basófilo y acidófilo (Tabla 2, Fig. 9).

3. Morfogénesis del ovario y ovogénesis en el imago

Imago 1 (24 y 72 horas después de la muda imaginal).— En hembras vírgenes, en las primeras horas de imago que aún no fueron copuladas, se observa abundante tejido graso rodeando externamente a cada ovario y, entre las ovariolas, alrededor del extremo proximal. En el *germario* de cada ovariola, el número de ovogonias y de ovocitos primarios en el primer período de crecimiento es considerablemente menor al observado en los primeros estadios ninfales, ya que la mayoría de las células se encuentran en el “segundo periodo de crecimiento”, por lo que en estas hembras es difícil observar las primeras etapas de la ovogénesis. A continuación del filamento terminal, en el *germario* se observan aproximadamente 5 ovogonias en interfase o bien en los primeros estadios de la mitosis, 2 o 3 ovocitos primarios en leptonema y 4 o 5 en paquinema, ambos tipos celulares rodeados por células del tejido prefolicular. Siguiendo al germario de cada ovariola se observa un acúmulo de aproximadamente 8 células prefoliculares que lo separan del vitelario.

En estas hembras, en la región distal y media del *vitelario* se observan aproximadamente 3 o 4 ovocitos primarios en postpaquinema y 14 ovocitos en el segundo periodo de crecimiento en los estadios previtelogenicos I, II y III, ya mencionados en ejemplares del Estadio Ninfal V, mientras que en el extremo proximal se observan 4 ovocitos en el estadio previtelogénico IV, los cuales al igual que los restantes ovocitos del vitelario, se disponen linealmente y aumentan progresivamente de tamaño hacia el extremo de la ovariola (Tabla 1). Entre el extremo proximal de cada ovariola y el pedicelo se observa un tapón epitelial de mayor espesor que en ejemplares del Estadio Ninfal V, el cual está constituido por 6 capas de 2 células foliculares delgadas, con grandes núcleos en posición externa y escaso citoplasma granular levemente basófilo entre ellos. El epitelio folicular que rodea a cada ovocito previtelogénico del *vitelario* se apoya sobre una delgada lámina basal fuertemente acidófila o túnica propia, la cual se prolonga a través del tejido interfolicular y separa a ambos tejidos de la vaina epitelial externa que rodea a cada ovariola (Fig. 10).

Los ovocitos en el estadio previtelogénico

IV, observado en hembras vírgenes de 24 horas de imago, están rodeados por un epitelio folicular simple constituido por células cilíndricas bajas, con limites celulares poco claros, por lo que es difícil determinar el número de células foliculares que constituyen cada folículo. Dichas células presentan grandes núcleos esféricos que ocupan la mayor parte de las mismas, con cromatina condensada en gránulos gruesos y separados, escaso citoplasma granular basófilo, solo en la región apical y la membrana apical con borde de estriado. Este epitelio se encuentra en un activo proceso de división celular, ya que se observan numerosas células foliculares en metafase y anafase mitótica (Fig. 10).

Los ovocitos en el estadio previtelogénico IV son alargados y ligeramente ovoideos, con un diámetro mayor que oscila entre 312 μm en los más pequeños y 468 μm en ovocitos próximos al pedicelo. La vesícula germinal de estos ovocitos mide desde 66 a 72 μm y está desplazada hacia el extremo posterior del mismo. La cantidad y aspecto de la cro-

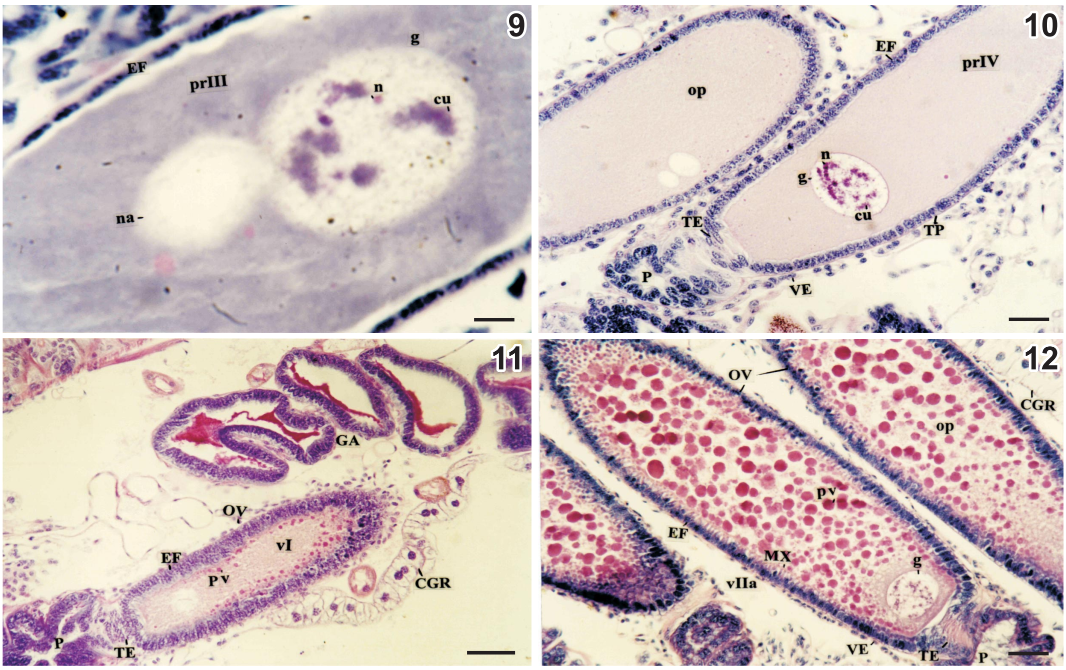


Figura 9: Folículo basal de la ovariola en el Estadio Ninfal V, se observa parte de un ovocito en el estadio previtelogénico III **(prIII)**. Se destaca la vesícula germinal **(g)** con la cromatina descondensada, cuerpos proteinosos **(cu)** y nucleolos **(n)**. En el ooplasma perinuclear del ovocito se observa un núcleo accesorio **(na)**. H-E. Barra = 1,2 µm.
Figura 10: Región proximal de las ovariolas en una hembra de 24 horas de imago, se observa el folículo basal separado del pedicelo **(P)** por un delgado tapón epitelial **(TE)**. Se destaca el epitelio folicular **(EF)** en activa división rodeado externamente por la túnica propia **(TP)** y la vaina externa **(VE)** de la ovariola. En el interior del folículo, se observa un ovocito primario **(op)** en el estadio previtelogénico IV **(prIV)**. H-E. Barra = 18,2 µm.
Figura 11: Corte sagital de una hembra de 5 días de imago. Se observa la glándula accesoria **(GA)** del aparato reproductor con secreción acidófila y el extremo proximal de una ovariola en continuidad con el pedicelo **(P)** rodeado por cuerpo graso y traqueolas. El folículo basal está constituido por un epitelio folicular **(EF)** cilíndrico simple en activa división que contiene un ovocito primario **(op)** en el estadio vitelogénico I **(vI)**. Se destaca la formación de plaquetas vitelinas **(pv)** en el ooplasma cortical del ovocito. H-E. Barra = 45,3 µm.
Figura 12: Corte sagital de la región ventral del ovario de una hembra de 10 días de imago. En el folículo basal de las ovariolas se observa un ovocito en estadio vitelogénico IIa **(vIIa)**, destacándose la vesícula germinal **(g)** en el extremo posterior del ovocito y el ooplasma cubierto de plaquetas vitelinas **(pv)**. H-E. Barra = 45,3 µm.

matina en el nucleoplasma es similar a la observada en los estadios anteriores de previtelogénesis, pero en estos ovocitos, los cuerpos proteinosos son menos compactos y parecen grandes acúmulos basófilos dispuestos preferentemente en la región central de la misma. Además se observan 2 macronucleolos compactos y fuertemente acidófilos superpuestos con los cuerpos proteinosos y numerosos micronucleolos junto a la cara interna de la envoltura nuclear. El ooplasma de estos ovocitos está constituido por finas granulaciones acidófilas con escasas plaquetas vitelinas, pequeñas y fuertemente acidófilas en la periferia del ovocito. La membrana plasmática es delgada y fuertemente acidófila (Tabla 2, Fig. 10). Tanto el aumento de diámetro de la vesícula germinal y el desplazamiento de ésta hacia el extremo posterior del ovocito como la ligera acidofilia del citoplasma, indicarían la finalización del segundo periodo de crecimiento (que incluye ovocitos en postpaquinema y en los diferentes estadios de previtelogénesis) que tiene lugar dentro del subestadio de diplonema de la meiosis.

En el ooplasma de algunos ovocitos previtelogénicos IV, se puede observar un número variable de "núcleos accesorios" que se presentan como vesículas de diferentes diámetros, íntimamente unidas entre sí y en proximidad a la vesícula germinal, rodeadas por una membrana semejante a la envoltura nuclear pero de menor espesor, observándose con gran aumento, pequeños canales que atraviesan las membranas de vesículas vecinas y escaso material granular basófilo en el interior de las mismas. Las diferencias morfológicas existentes entre estos núcleos accesorios y los descriptos durante el desarrollo postembrionario probablemente se deban a que se encuentran en una etapa diferente de su formación.

Imago 2 (5 días después de la muda imaginal).— En estas hembras se observan importantes cambios en sus gónadas, observándose en el extremo proximal del *vitelario* de cada ovariola ovocitos en diplonema en una etapa inicial del proceso de vitelogénesis, que serán considerados en este trabajo como ovocitos en el estadio vitelogénico I, indicio del comienzo del "tercer periodo de crecimiento" del ovocito (Tabla 1).

Los ovocitos primarios en el estadio vitelogénico I están rodeados por un epitelio folicular simple con limites celulares poco visibles, de un espesor considerablemente mayor al observado en ovocitos al final de la previtelogénesis y, al igual que en ovocitos previtelogénicos IV, se encuentra en un activo proceso de división celular, ya que en él se observan numerosas células en metafase y anafase mitótica. Dicho epitelio está constituido por células cilíndricas altas con grandes núcleos ovoideos en posición basal, con la cromatina condensada en gránulos gruesos y separados y envoltura nuclear poco visible. El citoplasma es basófilo finamente granular y está localizado principalmente en la región apical de la célula y la membrana apical presenta un fino borde estriado. El epitelio folicular de estos ovocitos se apoya sobre una lámina basal fuertemente acidófila, de mayor espesor que en los restantes folículos del vitelario (Fig. 11).

En ovocitos del estadio vitelogénico I se observa un importante crecimiento que se manifiesta principalmente en la cantidad de ooplasma de los mismos, ya que la vesícula germinal mantiene un diámetro similar al observado en hembras de 24 horas de imago, mientras que el diámetro mayor de estos ovocitos oscila entre 540 y 594 μm. En estos ovocitos, la vesícula germinal ha completado su desplazamiento hacia el extremo posterior del mismo (próximo al pedicelo de la ovariola), lo que indicaría el inicio del proceso de vitelogénesis. La cromatina se encuentra en forma de finas hebras y abundantes gránulos basófilos (cromómeros) que cubren la mayor parte del jugo nuclear y la envoltura nuclear es claramente visible. En la vesícula germinal de estos ovocitos no se observan cuerpos proteinosos y los nucleolos se presentan como pequeñas granulaciones fuertemente acidófilas o micronucleolos. El citoplasma está constituido en su mayor parte por finas granulaciones acidófilas, observándose solo en la región cortical pequeñas plaquetas vitelinas

fuertemente acidófilas. En este estadio de vitelogénesis, el ovocito comienza a sintetizar parte de su cubierta externa, observándose entre el epitelio folicular y el oolema, una delgada matriz extracelular constituida por finas granulaciones fuertemente acidófila que corresponde a la envoltura vitelina en formación (Tabla 2, Fig. 11).

En estas hembras, alrededor del extremo proximal de las ovariolas, se observa un gran desarrollo del cuerpo graso, cuyos adipocitos de forma cilíndrica, se unen formando largos cordones irregulares. Dichas células presentan núcleos esféricos y fuertemente basófilos en posición central, con la cromatina condensada en gránulos gruesos que cubren completamente el nucleoplasma. Alrededor del núcleo se observa abundante citoplasma de aspecto ligeramente esponjoso (Fig. 11).

Imago 3 (10 días después de la muda imaginal).— En estas hembras, en el extremo proximal del *vitelario* de cada ovariola, se observan ovocitos primarios en una etapa más avanzada del proceso de vitelogénesis que será considerado como estadio vitelogénico II (Tabla 1). Estos ovocitos son ovoideos y presentan un rango de crecimiento mayor al observado en los ovocitos en el estadio vitelogénico I, ya que su diámetro mayor oscila entre 700 y 1500 μm. La vesícula germinal permanece en el extremo posterior del mismo, con un diámetro aproximado de 66 μm. En este estadio de vitelogénesis, se diferencian dos tipos de ovocitos: 1) los de menor tamaño, que serán considerados como ovocitos en estadio vitelogénico IIa, en cuya vesícula germinal se observa parte de la cromatina en forma de finas hebras y el resto condensada en gránulos fuertemente basófilos que se concentra en pequeños acúmulos en la región central de la misma, donde se observa además 6 micronucleolos. La envoltura nuclear de estos ovocitos es completamente lisa (Fig. 12); y 2) los de mayor tamaño, considerados como ovocitos en estadio vitelogénico IIb, en cuya vesícula germinal se observa mayor cantidad de cromatina condensada y la envoltura nuclear es ligeramente ondulada, fragmentada en algunos puntos y con finas granulaciones basófilas junto a la cara interna y externa de la misma. Las características de la vesícula germinal de estos ovocitos indicarían que en las células en el estadio vitelogénico IIb se ha iniciado el proceso de condensación cromósomica y fragmentación de la envoltura nuclear. Por lo tanto, estos ovocitos se encuentran en la etapa previa a la ruptura de la vesícula germinal, indicando la finalización del subestadio de diplonema. En el citoplasma de ambos tipos de ovocitos se observan finas granulaciones acidófilas y abundantes plaquetas vitelinas esféricas de diferentes diámetros, variando en cantidad y diámetro según el tamaño del ovocito. En el ooplasma de los ovocitos en el estadio vitelogenicos IIb se observa la mayor cantidad de plaquetas vitelinas (Tabla 2, Fig. 13).

Los ovocitos en el estadio vitelogénico II están rodeados por un epitelio folicular constituido por células cilíndricas altas con forma de botella o clava, con grandes núcleos fuertemente basófilos ubicados en la base de la célula y la cromatina condensada en gránulos gruesos que cubren completamente el nucleoplasma. Alrededor del núcleo, se observa escaso citoplasma basófilo finamente granular, mientras que en la región apical de la célula se observa abundante citoplasma homogéneo fuertemente basófilo. En los ovocitos en el estadio vitelogénico IIb, se observa un halo blanco en la región supranuclear de las células foliculares, que corresponde a la imagen negativa del Golgi, indicando una intensa actividad secretora. En esta zona de la ovariola (al igual que en el resto del vitelario), entre la membrana apical del epitelio folicular y la membrana plasmática del ovocito en el estadio vitelogénico II, se observa una delgada matriz extracelular constituida por finas granulaciones acidófilas (Tabla 2, Figs. 12 y 13).

Imago 4 (12 días después de la muda imaginal).— En estas hembras, el folículo basal de cada ovariola contiene un ovocito primario en la etapa final del proceso de vitelogénesis incluido en el subestadio de diplonema

de la meiosis, que será considerado como estadio vitelogénico III. Como en estos ovocitos aún no se realizó el proceso de coriogénesis que en estos insectos se produce en el interior de cada ovariola antes de la ovulación, fue necesario hacer una subdivisión dentro de este estadio de vitelogénesis y por lo tanto los ovocitos del folículo basal, que carecen de corion, serán considerados como ovocitos en el estadio vitelogénico IIIa. Estos ovocitos presentan un diámetro mayor que oscila entre 2,64 a 3,36 μm y por lo tanto se encuentran en la etapa final del tercer periodo de crecimiento (Fig. 14).

Los ovocitos en el estadio vitelogénico IIIa, presentan un ooplasma completamente cargados de plaquetas vitelinas de forma hexagonal que se unen formando grandes masas de vitelo en el interior del mismo, observándose restos de citoplasma granular acidófilo solo en la región cortical, donde se observa una estrecha zona de gránulos de diferentes diámetros fuertemente acidófilos junto a la cara interna del oolema. En estos ovocitos la vesícula germinal no es visible (Tabla 2, Fig. 14). En el estadio vitelogénico IIIa se completa la síntesis de la envoltura vitelina, la cual se identifica como una delgada matriz extracelular de aspecto homogéneo y levemente acidófila, ubicada entre el oolema y la membrana plasmática del epitelio folicular (Fig. 15). Cada ovocito en el estadio vitelogénico IIIa está rodeado por epitelio folicular simple, constituido por células cúbicas en la mayor parte del folículo que sintetizarán el corion, y células cilíndricas en el extremo posterior del ovocito relacionadas con la formación del micrópilo y earópilo del huevo. El núcleo de las células foliculares cúbicas es esférico en posición basal, con la cromatina condensada en gránulos finos distribuidos en forma homogénea cubriendo completamente el nucleoplasma y 1 o 2 nucleolos acidófilos claramente visibles. El citoplasma, fuertemente basófilo y finamente granular, está concentrado principalmente en la región apical de la célula. Las células cilíndricas presentan un núcleo de características similares a las anteriores, pero el citoplasma es menos basófilo y de aspecto vacuolar en la región basal y apical de las mismas (Tabla 2, Fig. 15).

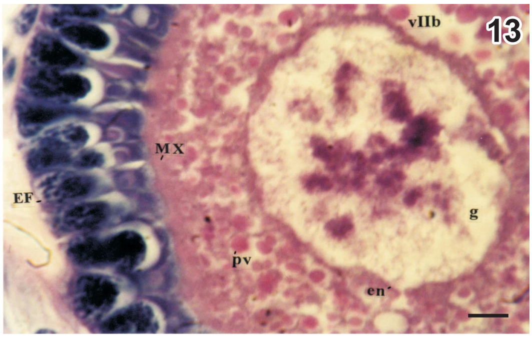
En las ovariolas de hembras de 12 días de imago, en íntimo contacto con la membrana basal del epitelio folicular de los ovocitos del vitelario se observa una delgada lámina basal levemente acidófila, que corresponde a la túnica propia. En cortes transversales de estas hembras, coloreados con la técnica de Verhoeff, se determinó que la lámina basal que rodea a los ovocitos del vitelario, está constituida por una gruesa capa interna de fibras de colágeno en intimo contacto con la membrana basal del epitelio folicular y una delgada capa externa de fibras elásticas en contacto con la vaina externa de la ovariola (Fig. 16).

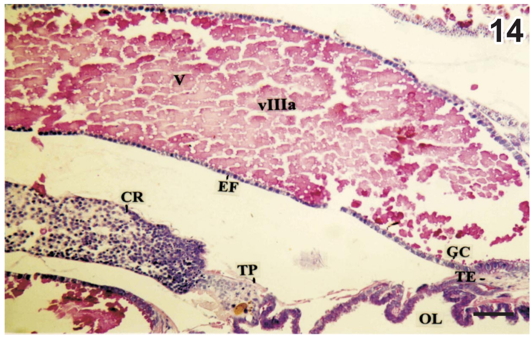
En estas hembras, casi todos los ovocitos del extremo proximal de las ovariolas se encuentran en la etapa final de la vitelogénesis, observándose en cada ovario la maduración simultánea de aproximadamente 18 ovocitos, lo cual coincide con el límite superior del rango alcanzado en el número de huevos por desoves de esta especie. Sin embargo, en un número reducido de ovariolas, a continuación de los ovocitos en el estadio vitelogénico I, se observa un "cuerpo de reabsorción", producto de la degeneración de un ovocito vitelogénico II que no ha completado su desarrollo (Fig. 14). En estas hembras se observa un ligero adelgazamiento del tapón epitelial que impide la comunicación entre el lumen de cada ovariola y la luz del extremo distal del oviducto lateral respectivo, quedando constituido solamente por 3 o 4 capas de células con núcleos pequeños y abundante citoplasma levemente basófilo entre ellos (Fig. 15).

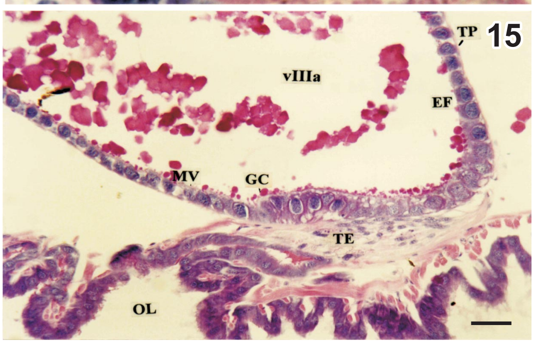
Los "cuerpos de reabsorción" observados en estas hembras se encuentran en las primeras etapas de su formación, ya que son alargados y miden aproximadamente 1,5 mm de longitud. Cada uno de estos cuerpos está separado del folículo anterior, por tejido interfolicular, en el cual la mayor parte de las células se disponen en forma irregular, y del pedicelo por un tapón epitelial de células completamente desordenadas, entre las que se observan acúmulos de pigmentos color

ámbar producidos por la reabsorción del vitelo del ovocito degenerado. Cada cuerpo de reabsorción está limitado externamente por una gruesa túnica propia lisa y fuertemente acidófila, que se pliega profundamente en el extremo anterior (tejido interfolicular) y posterior (tapón epitelial) del mismo. En el interior de los cuerpos de reabsorción se observan numerosas células foliculares esféricas y de disposición irregular, con escaso citoplasma granular levemente acidófilo y grandes núcleos esféricos con la cromatina condensada en gránulos finos que cubren completamente el nucleoplasma o bien pequeños y picnóticos. Entre las células foliculares se pueden observar grandes vacuolas y restos de vitelo fuertemente acidófilo.

Imago 5 (14 días de imago durante la cópula y a las 12, 24 y 48 horas después de la cópu-







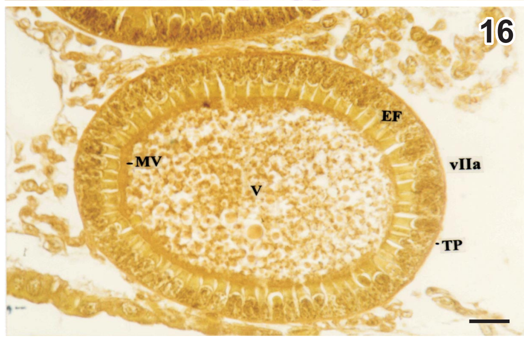


Figura 13: Corte sagital de la región ventral del ovario de una hembra de 10 días de imago. Se observa parte de un folículo basal de una ovariola con un ovocito en estadio vitelogénico IIb **(vIIb)**, se destaca la vesícula germinal **(g)** en el extremo posterior del ovocito con la envoltura nuclear **(en)** ondulada y fragmentada, el ooplasma perinuclear cubierto de plaquetas vitelinas **(pv)**, y externamente al oolema una gruesa matriz extracelular **(MX)**. Se destaca las características citológicas del epitelio folicular **(EF)** con intensa actividad secretora. H-E. Barra = 1,2 µm.

Figura 14: Corte sagital del ovario de una hembra de 12 días de imago. En el folículo basal de las ovariolas, se observan ovocitos en estadio vitelogénico IIIa **(vIIIa)** con el ooplasma cargado de vitelo **(v)** y rodeados por un epitelio folicular **(EF)** cúbico simple con células cilíndricas en el extremo posterior del ovocito. Se destaca una ovariola con un cuerpo de reabsorción **(CR)** en su extremo proximal. H-E. Barra = 288 µm.

Figura 15: Región proximal de la ovariola de una hembra de 12 días d imago. Se observa el folículo basal con un ovocitos en estadio vitelogénico IIIa **(vIIIa)** separado del oviducto lateral **(OL)** por un grueso tapón epitelial **(TE)**. Se destaca la formación de gránulos acidófilos **(GC)** junto a la cara interna del oolema y externamente a esta la envoltura vitelina **(MV)**. Se observa la modificación del epitelio folicular **(EF)** en la región micropilar. H-E. Barra = 45,3 µm.

Figura 16: Corte transversal de un ovocito en el estadio vitelogénico IIa **(vIIa)** de una hembra de 12 días de Imago. Se detaca el ooplasma cargado de vitelo **(v)**. Externamente al epitelio folicular **(EF)**, se observa la túnica propia **(TP)** constituida por fibras elásticas. H.V. Barra = 6,6 µm.

la).— En hembras fijadas durante la primera cópula, los ovarios están completamente desarrollados y en cada ovariola se puede distinguir claramente el *germario* con escasas ovogonias y ovocitos primarios en el primer periodo de crecimiento y el *vitelario* con ovocitos primarios en el segundo y tercer periodo de crecimiento, observándose desde el filamento terminal al pedicelo, las diferentes etapas de la ovogénesis descriptas en hembras adultas de diferentes edades (Tabla 1). Sin embargo, en el folículo basal de cada ovariola de estas hembras, se observa un ovocito primario en la etapa final del estadio III de vitelogénesis, considerado como estadio vitelogénico IIIb. Estos ovocitos mantienen las dimensiones y características citológicas de los observados en el estadio vitelogénico IIIa, pero están cubiertos externamente además de la envoltura vitelina por el corion. El corion que rodea a estos ovocitos es delgado, fuertemente acidófilo y está constituido por una capa interna o endocorion, ubicada junto a la envoltura vitelina, y una capa externa o exocorion, delgada, homogénea, fuertemente acidófila y con depresiones hexagonales en su superficie externa, en íntimo contacto con las células foliculares que rodean al ovocito. En estos ovocitos en los cuales se ha completado el proceso de coriogénesis, el epitelio folicular es delgado y está formado por células cúbicas bajas de escasa actividad secretora. En ellas se observan núcleos esféricos ligeramente comprimidos sobre la membrana basal, la cromatina está condensada en gránulos gruesos y separados, el citoplasma, ubicado principalmente en la región apical, es basófilo finamente granular. La membrana apical de las células foliculares está en contacto directo con el exocorion (Tabla 2, Fig. 17).

En hembras fijadas durante la cópula, el folículo basal de cada ovariola está rodeado externamente por la túnica propia y la vaina externa completamente adelgazadas, y a continuación de este folículo se observa un delgado tapón epitelial constituido por 2 o 3 capas de células, que impiden el descenso de los ovocitos maduros a través del pedicelo hacia la luz del oviducto lateral.

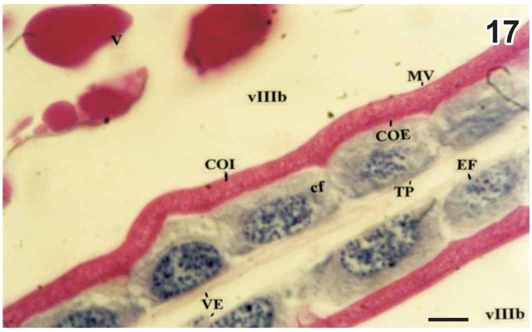
En los ovarios de hembras aisladas del macho y fijadas a las 12, 24 y 48 horas después de la primera cópula, se observaron en el interior de los 2 últimos folículos del *vitelario*, ovocitos en los estadios vitelogénicos IIIa y IIIb y a continuación de éstos un grueso tapón epitelial que impide el descenso de los ovocitos maduros.

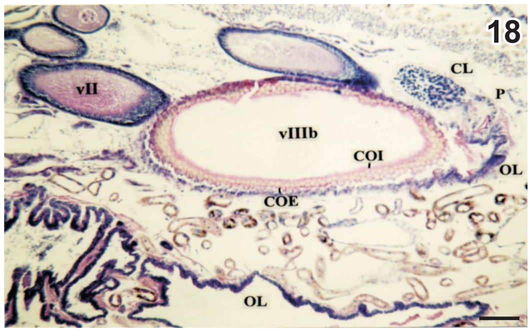
Imago 6 (15, 20 y 25 días después de la muda imaginal).— Las observaciones realizadas en gónadas y demás órganos reproductivos de estas hembras (ya copuladas), mostraron un desarrollo completo de la ovogénesis dentro del ovario, observándose en el interior del folículo basal de cada ovariola, ovocitos en el estadio vitelogénico IIIa o IIIb (con o sin corion) y en los ovarios de algunas de estas hembras indicios de la primera ovulación. En estas hembras, cada ovariola contiene la serie completa de las diferentes etapas de la ovogénesis, desde ovogonias en el extremo distal del *germario* hasta ovocitos primarios en el estadio vitelogénico II en el extremo proximal del *vitelario*, ya que los ovocitos en el estadio vitelogénico III fueron ovulados (Tabla 1). A continuación del último folículo de cada ovariola se observa una estrecha zona de tejido interfolicular (con células aplanadas dispuestas en capas paralelas) que lo separa de un corto conducto de paredes gruesas y luz estrecha ubicado en la base de la ovariola. Cada uno de estos conductos corresponde a un “cuerpo lúteo”, formado por la reducción progresiva del folículo basal de la ovariola, luego de la ovulación de un ovocito maduro en el estadio vitelogénico IIIb.

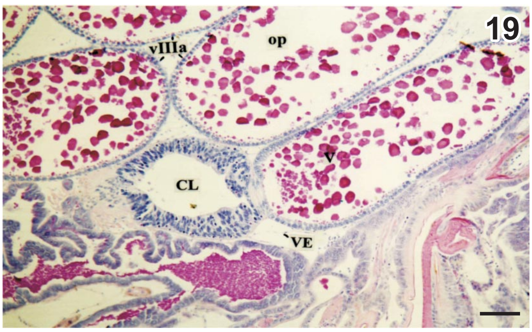
La longitud de cada cuerpo lúteo varía según el grado de contracción del folículo, pero en general, están constituidos por 3 o más capas de células foliculares en degeneración que rodean a una pequeña cavidad central. Las células foliculares son pequeñas y ovoideas y, en ellas, se observan grandes núcleos fuertemente basófilos con la cromatina condensada en gránulos gruesos que cubren completamente el nucleoplasma y escaso citoplasma levemente acidófilo alrededor de los mismos. Cada cuerpo lúteo está

limitado externamente por una delgada túnica propia, que forma pequeños pliegues en el extremo superior e inferior del folículo, producidos por su proceso de contracción.

En ovarios de hembras fijadas entre los 15 y 25 días de imago, en el extremo proximal de algunas ovariolas, a continuación del tapón epitelial que separa el folículo basal del pedicelo, se observaron restos de folículos con grandes vacuolas cargadas de pigmentos amarillos. En estas hembras se observaron ovocitos en el estadio vitelogénico IIIb (con el extremo micropilar dirigido hacia el extremo posterior del abdomen) en la región distal y media de los oviductos laterales, con un corion de aspecto diferente al







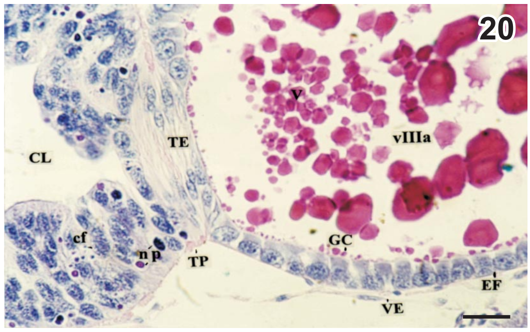


Figura 17: Corte sagital del ovario de una hembra de 14 días de imago fijada durante la cópula. Se observa parte del folículo basal de dos ovariolas con ovocitos en estadio vitelogénico IIIb **(vIIIb)**, cargados de vitelo **(v)**. Entre el epitelio folicular **(EF)** y la envoltura vitelina **(MV)** de cada ovocito, se observa un corion formado por una gruesa capa interna o endocorion **(COI)** y una delgada capa externa o exocorion **(COE)**. Externamente al epitelio folicular de cada ovariola se observa la túnica propia **(TP)** y la vaina externa **(VE)**. H-E. Barra = 1,2 µm.

Figura 18: Corte sagital de una hembra de 16 días de imago. Se observa el extremo proximal de una ovariola con ovocitos en el estadio vitelogénico II **(vII)**, un pequeño cuerpo lúteo **(CL)** y a continuación del pedicelo **(P)**, la región distal del oviducto lateral **(OL)** en cuya luz se observa un ovocitos en estadio vitelogénico IIIb **(vIIIb)**. En estos ovocitos, en los que el vitelo se ha desprendido por el procesamiento histológico, se observa un aumento de espesor y cambio de coloración del exocorion **(COE)**. H-E. Barra = 288 µm.

Figura 19: Corte sagital de una hembra de 30 días de imago. Se observa el extremo proximal de las ovariolas con ovocitos primarios **(op)** en estadio vitelogénicoIIIa **(vIIIa)** y a continuación de estos un cuerpo lúteo **(CL)**, producto de la ovulación de un ovocito maduro. H-E. Barra = 288 µm.

Figura 20: Extremo proximal de la ovariola de una hembra de 30 días de imago, donde se observa parte de un folículo basal con un ovocito en estadio vitelogénicoIIIa **(vIIIa)**, separado del cuerpo lúteo **(CL)** por un delgado tapón epitelial **(TE)**. Se destaca las modificaciónes del epitelio folicular que rodea al ovocito con el del cuerpo lúteo, con células foliculares **(cf)** dispuestas en forma irregular y numerosos núcleos picnótico **(np)**. Externamente al epitelio folicular se observa la túnica propia **(TP)** plegada a nivel del tapón epitelial y la vaina externa **(VE)** lisa. Se destaca el ooplasma del ovocito cargado de grandes plaquetas vitelinas **(v)** y pequeños gránulos acidófilos **(GC)** junto a la cara interna del oolema. H-E. Barra = 18,2 µm.

observado en ovocitos maduros dentro de la ovariola. El corion de estos ovocitos, presenta una coloración ligeramente pardusca y un importante aumento del espesor del exo y endocorion, lo cual se acentúa más en el extremo posterior del ovocito o región micropilar (Fig. 18).

Aunque en estas hembras, todas las ovariolas presentan un cuerpo lúteo a continuación del folículo basal, el número de ovocitos dentro del oviducto lateral respectivo fue menor al número de ovocitos ovulados. Por otra parte, en estas hembras no se observaron ovocitos maduros ni en la luz del oviducto medio ni en la de la cámara genital.

Imago 7 (30 días de imago y al finalizar la puesta).— Las observaciones realizadas en estas hembras, muestran en el folículo basal de cada ovariola, un ovocito en el estadio vitelogénico IIIa (sin corion), separado del pedicelo por un cuerpo lúteo reducido. Cada cuerpo lúteo contiene abundantes células foliculares, cuyos núcleos presentan un alto grado de condensación de la cromatina o bien son picnóticos y están rodeados por un citoplasma vacuolar levemente acidófilo. La presencia de un ovocito completamente desarrollado y un cuerpo lúteo reducido (producto de la primera ovulación) en el extremo proximal de cada una de las ovariolas de estas hembras, indicaría que en estos ovarios se estaría por producir la segunda ovulación (Figs. 19 y 20). En estos ejemplares no se observaron ovocitos en el estadio vitelogénico III ni en oviductos ni en cámara genital. Sin embargo, se observó una amplia comunicación entre la luz de los oviductos laterales y el oviducto medio y un aumento de diámetro de la dilatación dorsal de la cámara genital, lo que indicaría el paso a través de estos conductos de ovocitos recientemente ovulados.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En este trabajo, se realiza una descripción histológica sobre el desarrollo del ovario de *Baeacris punctulatus*, en la cual se pone de manifiesto las etapas más importantes en su proceso de diferenciación durante el desarrollo embrionario, postembrionario y el imago. Al mismo tiempo, se establecen parámetros morfofisiológicos para la identificación de las células sexuales durante las diferentes etapas del proceso de ovogénesis. Las características observadas en el desarrollo y maduración del ovario de *Baeacris punctulatus* se comparan con los aspectos mencionados sobre este proceso para otras especies de Acrididae, como *Anacridium aegyptium*, *Melanoplus differentialis*, *Locusta migratoria migratorioides*, *Poecilocerus pictus*, *Schistocerca gregaria* y para otros insectos.

Mediante las observaciones realizadas, se determinó que en *Baeacris punctulatus* los ovarios se identifican por su organización estructural a partir del Estadio X del desarrollo embrionario. En este estadio, cada ovario está constituido por el número total de esbozos que forman las ovariolas de la hembra adulta.

En el Estadio Embrionario XI, antes de la eclosión de las ninfas, en cada esbozo de ovariola se identifica el rudimento del germario con ovogonias en mitosis, preovocitos y ovocitos primarios en preleptonema, leptonema y cigonema de la profase I de la meiosis. En *Baeacris punctulatus* como en *Anacridium aegyptium* (Colombo, 1953) los preovocitos, por sus características citológicas, corresponden a ovogonias en interfase premeiótica. Sin embargo, la determinación de la iniciación de la meiosis ovogonial antes de la eclosión de las ninfas en *Baeacris punctulatus* no fue mencionada hasta el momento en otras especies de Acrididae, ya que los trabajos realizados por Nelsen (1934) en *Melanoplus differentialis*, Roonwal (1937) y Gallois (1979a, 1979b) en *Locusta migratoria migratorioides*, Colombo (1953, 1955) y Colombo y Bassato (1957) en *Anacridium aegyptium*, mencionan que tanto en el macho como en la hembra de estas especies, la meiosis comienza entre el primer y segundo estadio ninfal.

Los ovocitos primarios en insectos al igual que en vertebrados, durante la ovogénesis experimentarán una serie de transformaciones morfológicas e histoquímicas, tan-

to a nivel citoplasmático como nuclear, que les permite crecer y madurar. Los cambios nucleares llevarán al final de la meiosis a la formación de un núcleo haploide y los cambios citoplasmáticos permiten la acumulación de los materiales necesarios para dirigir el desarrollo embrionario temprano (Karp, 1987; Villecco, 1998; Alberts *et al*., 2004). En *Baeacris punctulatus*, al igual que en *Anacridium aegyptium* (Colombo, 1953), una vez iniciada la meiosis, los ovocitos primarios pasarán por tres periodos de crecimiento: el primero incluye desde el comienzo de la profase I con el subestadio de preleptonema hasta el final del subestadio de paquinema, el segundo abarca el subestadio de postpaquinema y el período de previtelogénesis del subestadio de diplonema, y el tercero abarca el periodo de vitelogénesis del subestadio de diplonema de la profase de la primera división de maduración. Al final del tercer período de crecimiento, el ovocito ha completado su desarrollo en el ovario y está en condiciones de ser ovulado.

Durante el primer estadio del desarrollo postembrionario de la hembra de *Baeacris punctulatus*, las ovariolas son ligeramente alargadas y están constituidas por el filamento terminal y la región del germario con ovogonias y preovocitos rodeados por células mesodérmicas indiferenciadas y grupos de ovocitos primarios en preleptonema, leptonema, cigonema y paquinema rodeados por células prefoliculares. En esta especie, al igual que en *Anacridium aegyptium* (Colombo, 1953), el paquinema por su larga duración se dividió en dos etapas, las cuales se identifican con facilidad por el comportamiento de los cromososmas a lo largo del mismo. Mientras el leptonema y cigonema abarcan periodos cortos que duran horas, el paquinema tiene una duración considerablemente mayor, abarcando varios días dentro del desarrollo postembrionario. La variación de tamaño y la disposición con respecto a las células prefoliculares observadas en los ovocitos primarios durante el primer estadio ninfal de la hembra de *B. punctulatus*, indicarían que estas células se encuentran en el primer periodo de crecimiento.

Durante el segundo estadio ninfal, las ovariolas crecen en longitud debido a la activa multiplicación de las células mesodérmicas y las células de la línea germinal que en ellas se desarrollan. Las ovogonias y los preovocitos ubicados lejos del filamento terminal adquieren una cierta ordenación con respecto a las células prefoliculares. Sin embargo, entre las ovogonias ubicadas en diferentes zonas del germario, no existen diferencias citológicas significativas, como sucede con las espermatogonias en el macho de esta especie (Michel, 2007), que justifiquen la clasificación de las ovogonias en primarias, secundarias y terciarias como lo establece Colombo (1953) para *Anacridium aegyptium*.

En *Baeacris punctulatus*, entre los ovocitos en el primer periodo de crecimiento, se observan numerosos núcleos picnóticos, que pueden haberse originado de ovogonias o de células prefoliculares que no continuaron su desarrollo. Este material cromatínico extracelular también fue observado por Colombo (1953) en ovariolas de igual estadio ninfal de *A. aegyptium*, y este autor afirma que dicho material se origina de ovogonias en degeneración y cumple una importante función en la iniciación de la meiosis tanto en la ovogénesis como en la espermatogénesis de esta especie. En estudios previos realizados sobre espermatogénesis en *B. punctulatus* (Michel, 2007), no se observaron núcleos picnóticos en los folículos testiculares, por lo que en esta especie este material cromatínico extracelular solamente podría intervenir en la iniciación de la meiosis ovogonial.

Al finalizar el segundo estadio ninfal, en el extremo proximal de cada ovoriola, se observaron ovocitos primarios en postpaquinema dispuestos linealmente y rodeados por células prefoliculares, por lo que en esta etapa del desarrollo postembrionario de *B. punctulatus* comienza a diferenciarse el vitelario y se inicia el segundo periodo de crecimiento del ovocito. Las características citológicas de los ovocitos en postpaquinema en esta especie es similar a la observada para otros Acrididae como lo mencionan Colombo (1953), Bonhag (1958) y Chapman (1969). Coincidimos con estos autores en que estas

células por su forma, tamaño y relación con las células prefoliculares, son fácilmente identificables en el extremo distal del vitelario de ovariolas panoísticas en desarrollo.

Durante el tercer estadio ninfal, se producen importantes cambios en los ovarios de *Baeacris punctulatus*, ya que en la región del vitelario por primera vez se observan ovocitos primarios en el estadio previtelogenico I del subestadio de diplonema. El subestadio diplonema en insectos como en los restantes grupos de invertebrados y vertebrados es una fase extremadamente larga y de intensa actividad metabólica, que se manifiesta tanto por el comportamiento de los cromosomas como por el aumento de la masa celular. Durante este subestadio, el crecimiento del ovocito dependerá en gran parte de la actividad sintetizadora de las células foliculares que forman una capa epitelial continua alrededor del mismo y se mantienen unidas por contactos en hendiduras que permiten el intercambio de pequeñas moléculas originadas a partir del tejido circundante y que serán los precursores de las proteínas vitelinas (Bonhag, 1958; Chapman, 1969; Karp, 1987; Saxena *et al*., 1988; Büning, 1994; Albert *et al*., 2004). En *B. punctulatus*, el diplonema incluye el periodo de previtelogenésis con cuatro estadios, que abarcan desde el comienzo del diplonema hasta la aparición de las primeras vesículas vitelinas y un periodo de vitelogénesis con tres estadios, en los cuales el ovocito acumula gran cantidad de proteínas vitelinas en su citoplasma, dando lugar a un crecimiento pronunciado en un corto periodo de tiempo, que finaliza con la formación de las cubiertas externas del ovocito.

Los ovocitos en el estadio previtelogénico I están rodeados por un epitelio folicular plano y se identifican fácilmente por su tamaño, forma, basofília citoplasmática y las características de la vesícula germinal en la cual comienza el proceso de desespiralización de la cromatina, se forman los cuerpos proteinosos y se visualizan claramente los nucleolos. En *Baeacris punctulatus*, los cuerpos proteinosos estuvieron presentes en todos los estadios de previtelogénesis, aunque su morfología y ubicación en la vesícula germinal fue cambiando en las diferentes etapas del proceso. Estas estructuras basófilas también fueron mencionadas para ovocitos previtelogénicos de *Anacridium aegyptium* como aparato siderofilo o endonúcleos (Colombo, 1953), de *Gryllus* como cuerpos proteinosos o endocuerpos y de *Xenopus* como organelas esféricas (Büning, 1994). Aunque estas estructuras varían en forma y cantidad según el grupo, coincidimos con ambos autores en que los cuerpos proteinosos están estrechamente relacionados con las hebras de DNA y junto con los nucleolos cumplen una importante función en la síntesis de RNA durante la profase meiótica del ovocito.

Durante el cuarto estadio ninfal de *Baeacris punctulatus*, los ovarios alcanzan el tamaño del adulto y están rodeados por abundante cuerpo graso, especialmente en la región proximal de las ovariolas. Coincidimos con Villeco (1998) y Albert *et al*. (2004) en que este aumento de volumen del cuerpo graso está directamente relacionado con el proceso de previtelogénesis que en ellas se desarrolla. En el vitelario, los ovocitos primarios de mayor tamaño se encuentran en el segundo estadio de previtelogénesis y se identifican por una marcada disminución de la basofília citoplasmática, un aumento de espesor en la envoltura nuclear, aumento en la cantidad de cromatina descondensada y en el número de cuerpos proteinosos en la vesícula germinal.

Durante el quinto estadio ninfal de la hembra de *Baeacris punctulatus*, los ovarios están rodeados por abundante cuerpo graso, gran cantidad de tubos de Malphigi y grandes tráqueas. En las ovariolas se reduce la longitud del germario y aumenta la del vitelario como consecuencia de una variación en el número de células que cada uno de ellos contiene. En este estadio se diferencia el tejido prefolicular que separa ambas regiones de la ovariola y el tejido interfolicular que separa los folículos ováricos dentro del vitelario, aunque en esta especie ambos tejidos presentan características citológicas similares. Coincidimos con Bonhag (1958) en la necesidad de diferenciarlos según la posición que éstos ocupan en la ovariola.

En el quinto estadio ninfal, los ovocitos del extremo proximal de la ovariola alcanzan el estadio previtelogénico III y están rodeados por un epitelio folicular cúbico simple en activa división, que descansa sobre una delgada lámina basal en íntimo contacto con la vaina externa de la ovariola. La vesícula germinal está ligeramente desplazada hacia el extremo posterior de la célula, la cromatina adquiere la característica forma de cromosomas plumulados, los cuerpos proteinosos son pequeños y compactos y los nucleolos adquieren un aspecto granular. El ooplasma de estos ovocitos es de menor basofília que en el estadio anterior de previtelogénesis y en su región perinuclear se forman núcleos accesorios. Según Büning (1994), los cromosomas plumulados han sido identificados en algunos ovarios panoísticos de insectos usando métodos clásicos. Sin embargo, las hélices son muy pequeñas y delicadas y solamente en algunas especies de Orthoptera, como *Locusta migratoria* y *Decticus albifrons*, la estructura de las hélices de ovocitos en los últimos estadios de previtelogénesis pueden ser comparables con la de los anfibios, mientras que en otros ovarios panoíticos como A*cheta domesticus*, la imagen no es clara. Las imágenes obtenidas en las vesículas germinales de ovocitos al final del periodo de previtelogénesis de *Baeacris punctulatus* son idénticas a las observadas en anfibios, por lo que coincidimos con Büning (1994) en que el concepto general de cromosomas plumulados utilizados para anfibios, puede ser también utilizado para ovocitos de insectos con ovariolas panoísticas.

Bonhag (1958) menciona la formación de núcleos accesorios en el citoplasma cortical de ovocitos vitelogénicos de insectos con ovariolas meroísticas como Hemiptera, Lepidoptera, Coleoptera, Diptera y especialmente en Hymenoptera, en los cuales ellos actuarían como precursores de los cuerpos de vitelo. Hopkins (1964) en cambio analiza la estructura y función de los núcleos accesorios durante los estadios de vitelogénesis de *Bombus terrestris* y sostiene que ellos se originan a partir de la vesícula germinal, contienen RNA y juegan un papel importante en la síntesis del vitelo y formación de la envoltura vitelina. Mientras que Büning (1994) menciona la formación de núcleos accesorios durante los estadios de previtelogénesis y vitelogénesis en el citoplasma de ovocitos de Hymenoptera, Mallophaga, Diptera (*Chironomus*, *Pryne*) y Mecoptera (*Panorpa*) y sostiene que aunque el proceso de formación y estabilización de los mismos es similar en los diferentes grupos mencionados, la estructura y la distribución en el ovocito es diferente en cada uno de ellos y probablemente estén involucrados en diferentes procesos celulares. Según este autor, los núcleos accesorios se originan por compartimentalización de la vesícula germinal durante los estadios de previtelogénesis y vitelogénesis y juntos con los cuerpos proteinosos cumplen una importante función como almacenamiento y transporte de ribonucleoproteínas y proteínas nucleares indispensables para las primeras etapas de embriogénesis. Los núcleos accesorios identificados en ovocitos previtelogénicos de *Baeacris punctulatus* presentan una estructura y distribución similar a la observada en *Eomenacanthus stramineus* (Mallophaga). Cabe mencionar que el hallazgo en *B. punctulatus* constituye la primera cita para Orthoptera. Considerando que los estudios realizados hasta el momento en los diferentes grupos de insectos no han permitido determinar claramente la función y el destino de los núcleos accesorios, será necesario realizar posteriores estudios con técnicas de inmunocitoquímica e histoquímicas, con el fin de contribuir al conocimiento del papel que juegan estas estructuras durante el desarrollo del ovocito y del embrión.

En las primeras 24 horas, después de la muda imaginal de la hembra *Baeacris punctulatus*, se reduce el número de ovogonias y de ovocitos primarios en el primer período de crecimiento, por lo que es difícil identificar las primeras etapas de la ovogénesis. Los ovocitos de mayor tamaño se encuentran en el estadio previtelogénico IV y están rodeados por un epitelio folicular cilíndrico bajo en activa multiplicación. Estos ovocitos son

alargados y ligeramente ovoideos, la vesícula germinal desplazada hacia el extremo posterior de la célula, presenta un gran desarrollo de los cromosomas plumulados, grandes cuerpos proteinosos y macronucleolos. En el ooplasma cortical de estos ovocitos comienzan a formarse las primeras plaquetas vitelinas, mientras que en la región perinuclear proliferan los núcleos accesorios en íntimo contacto con la vesícula germinal. En las ovariolas de estas hembras, aumenta el espesor de la lámina basal del epitelio folicular que rodea a cada ovocito del vitelario y por lo tanto comienza a formarse la túnica propia. Bonhag (1958), Chapman (1969) y Sahai y Banerjee (1987) sostienen que en insectos en general y en particular en *Poecilocerus pictus*, la túnica propia se extiende a lo largo de toda la ovariola (tanto en la región del germario como del vitelario) y por lo tanto tiene un doble origen, a partir de las células epiteliales que forman la vaina externa y de las células foliculares. En *B. punctulatus*, la túnica propia está presente solamente en la región del vitelario, por lo que sería sintetizada solo por las células foliculares y como lo mencionan estos autores, en esta región de la ovariola, la vaina externa y la túnica propia cumplen una importante función en el transporte de nutrientes desde el cuerpo graso a través del epitelio folicular al ovocito en desarrollo para la síntesis de vitelo. Asimismo, la presencia de fibras colágenas en la cara interna de la túnica propia observada en la región proximal del vitelario, corroboraría que esta lámina basal cumple una función de sostén, mientras que la presencia de fibras elásticas en la capa externa indicaría que la túnica propia también cumple una importante función en el transporte del ovocito a través del vitelario.

A los 5 días de vida adulta se produce un importante aumento en la cantidad de cuerpo graso que rodea a cada ovario y cambia la morfología de las células adiposas que rodean la región proximal de las ovariolas, lo cual como mencionan Nieto Nafria y Mier Durante (1985) está directamente relacionado con la iniciación del proceso de vitelogénesis en los ovocitos ubicados en el folículo basal de esta región, ya que en esta especie como en los restantes insectos, el cuerpo graso actúa como un órgano de reserva de glucógeno, proteínas y lípidos para ser utilizados en periodos de gran actividad metabólica.

En *Baeacris punctulatus*, al igual que en *Anacridium aegyptium* (Colombo, 1953), al iniciarse el proceso de vitelogénesis se inicia el tercer período de crecimiento del ovocito, el cual culminará cuando la célula completamente cargada de vitelo haya alcanzado su tamaño definitivo y esté en condiciones de ser ovulada. En hembras de 5 días, los ovocitos ubicados en el folículo basal de cada ovariola se encuentran en el estadio vitelogénico I y están rodeados por un epitelio folicular simple constituido por células cilíndricas altas en activa división y una gruesa lámina basal que le confiere mayor espesor a la túnica propia en esta región del vitelario. Los ovocitos en el estadio vitelogénico I se identifican fácilmente por su tamaño y forma y por su citoplasma granular acidófilo con numerosas plaquetas vitelinas en la región cortical. La vesícula germinal en estos ovocitos está ubicada en el extremo micropilar o posterior de la célula, con la cromatina completamente descondensada, con numerosos micronucleolos y una envoltura nuclear claramente visible. Estas observaciones coinciden con las de Büning (1994), quien sostiene que el desplazamiento de la vesícula germinal hacia su posición definitiva en el huevo, es el principal indicio de la iniciación del proceso de vitelogénesis. Del mismo modo, la presencia de una delgada matriz extracelular acidófila entre el oolema y la membrana plasmática del epitelio folicular, indicaría que en el primer estadio de la vitelogénesis de *B. punctulatus* comienza a sintetizarse la envoltura vitelina, la cual como en los restantes insectos, formará parte de la cubierta externa del ovocito en el momento de ser ovulado (Albert *et al*., 2004).

A los 10 días de imago de la hembra de *Baeacris punctulatus*, el ovocito primario del folículo basal de cada ovariola ha alcanzado el segundo estadio de vitelogénesis. Este estadio incluye dos etapas sucesivas, las cua-

les se diferencian por el tamaño del ovocito, las características de la vesícula germinal (tanto de la cromatina como de la envoltura nuclear), la cantidad de plaquetas vitelinas acumuladas en el citoplasma y en el estado funcional de las células foliculares que lo rodean. Lusis (1963) analiza el proceso de vitelogénesis en *Schistocerca gregaria* y lo divide en cuatro estadios, de los cuales el segundo correspondería solo al estadio vitelogenico IIa de *B. punctulatus*, ya que este autor no observa ovocitos en la etapa previa a la ruptura de la vesícula germinal, la cual coincidimos con Büning (1994) y Albert *et al.* (2004), indica la finalización del proceso de vitelogénesis y por lo tanto del estadio de diplonema de la profase I de la meiosis.

La segunda etapa del estadio vitelogénico II de *Baeacris punctulatus* fue también observada por Sahai y Banerjee (1987) en *Poecilocerus pictus*. En el segundo estadio de vitelogénesis de *B. punctulatus*, las células foliculares adquieren forma de clava, con un núcleo grande en posición basal e intensa basofilia citoplasmática en la región apical, destacándose en el epitelio folicular de los ovocitos en el estadio vitelogenico IIb, el gran desarrollo del aparato de Golgi en la región supranuclear de sus células, lo que indicaría su intensa actividad secretora (Bonhag, 1958; Albert *et al.*, 2004). Las características citológicas del epitelio folicular en el segundo estadio de vitelogénesis de *Baeacris punctulatus*, coinciden con las observadas en etapas previas a la síntesis del corion de *Poecilocerus pictus*. Sin embargo, en *B. punctulatus*, no se han observado células foliculares binucleadas como las mencionadas por Chapman (1969) en otros insectos, y Sahai y Banerjee (1987) y Saxena *et al.* (1988) en *P. pictus*. Las observaciones realizadas en los restantes órganos reproductores de estas hembras, en las cuales aún no se ha completado el desarrollo del ovocito en el ovario, mostraron que sus espermatecas estaban cargadas de abundante fluido seminal con espermatozoides, por lo que coincidimos con Gillot (1980) en que las hembras adultas de Acrididae pueden ser copuladas antes de alcanzar su madurez sexual.

Entre los 12 y 14 días de vida adulta de la hembra de *Baeacris punctulatus*, los ovocitos primarios que llegan al folículo basal de cada ovariola se encuentran en el último estadio de vitelogénesis. Durante este estadio, los ovocitos pasarán por dos etapas sucesivas: la primera, considerada como estadio vitelogenico IIIa, en la cual se completa la síntesis de vitelo y de la envoltura vitelina, y el ovocito alcanza su tamaño definitivo finalizando así el tercer período de crecimiento, y la segunda etapa, considerada como estadio vitelogénico IIIb, en la cual se produce la síntesis del corion a partir de las células foliculares. Al finalizar el periodo de vitelogénesis, en *B. punctulatus* como en los restantes insectos, los ovocitos primarios estarán en condiciones de iniciar el proceso de maduración ovocitaria, es decir, la reanudación de la meiosis por un aumento local de la ecdisona en el ovocito, lo que le permitirá completar su desarrollo dentro del ovario y transformarse en un ovocito maduro en condiciones de ser ovulado (Büning, 1994; Villecco, 1998; Albert *et al.*, 2004). Debido a la gran cantidad de vitelo acumulada en el ooplasma de los ovocitos en el estadio vitelogenico III, no se pudo determinar la características del material cromosómico de estas células. Sin embargo, las características de la vesícula germinal en ovocitos en el estadio vitelogénico IIb en los cuales se observa una envoltura nuclear fragmentada en algunos puntos, indicaría que en los ovocitos en el estadio vitelogénico IIIb, que corresponde al final del período de vitelogénesis de *B. punctulatus*, ya se ha producido la ruptura de la vesícula germinal e iniciado el subestadio de diacinesis o etapa inicial de la maduración ovocitaria.

Los ovocitos en el estadio vitelogénico IIIa se identifican fácilmente porque la vesícula germinal no es visible y el ooplasma está completamente cargado de vitelo, observándose en la región cortical una delgada zona de gránulos fuertemente acidófilos. Externamente al ovocito y en íntimo contacto con el oolema, se observa la envoltura vitelina. Bonhag (1958), Lusis (1963), Sahai (1984), y Saxana *et al.* (1988) analizan el

proceso de vitelogénesis en ovocitos terminales de diferentes especies de Acrididae y se refieren a la síntesis de vitelo y al proceso de coriogénesis, pero no mencionan la presencia de gránulos acidófilos como los observados en el ooplasma cortical de ovocitos en el estadio vitelogénico IIIa de *Baeacris punctulatus*, los cuales podrían corresponder a los gránulos corticales presentes en muchos óvulos incluidos los de mamíferos. Según Albert *et al*. (2004), los gránulos corticales, al igual que la envoltura vitelina, son sintetizados por el propio ovocito y cumplen una importante función durante la fecundación, ya que al producirse el impacto espermático, éstos liberan su contenido por exocitosis y producen una alteración de la cubierta externa del ovocito evitando la polispermia. La envoltura vitelina, en cambio, tiene como función proteger al ovocito de lesiones mecánicas y actuar como barrera especifica permitiendo solo el paso de espermatozoides de la misma especie.

En el estadio vitelogénico IIIa de *Baeacris punctulatus*, se producen importantes cambios a nivel del epitelio folicular, los cuales, coincidiendo con Chapman (1969) y Albert *et al*. (2004), están directamente relacionados con el proceso de coriogénesis. En estos ovocitos la mayor parte del epitelio folicular está constituido por células cúbicas con una intensa basofília citoplasmática, mientras que las células ubicadas en el extremo posterior del ovocito, que están relacionadas con la formación del micrópilo y earópilo del huevo, son cilíndricas con un citoplasma levemente basófilo y de aspecto vacuolar. En el estadio vitelogénico IIIb, el ovocito está rodeado por un corion con dos capas fácilmente diferenciables por su morfología y espesor, y como consecuencia del proceso de coriogénesis el epitelio folicular es de menor espesor y escasa actividad secretora.

El epitelio folicular en ambas etapas del tercer estadio de vitelogénesis, presenta una lámina basal de gran espesor constituida por una gruesa capa interna de fibras de colágeno y una delgada externa de fibras elásticas. El aumento de espesor de la lámina basal del epitelio folicular durante el desarrollo del ovocito en el vitelario indicaría que en *Baeacris punctulatus* la túnica propia, además de ser una estructura mecánica que mantiene la forma de la ovariola, cumple una importante función en el transporte de nutrientes y el acceso de hormonas durante la previtelogénesis. Por otra parte, el mayor espesor de la túnica propia en el extremo proximal del vitelario indicaría que también contribuye al desplazamiento del ovocito dentro de la ovariola y a su eliminación durante la ovulación, lo cual coincidiría con los conceptos de túnica propia establecidos por Bonhag (1958), Chapman (1969) y Büning (1994) para otras especies de Acrididae con ovariolas panoísticas.

Entre los 15 y 30 días de vida adulta, todas las hembras de *Baeacris punctulatus* contienen ovariolas cargadas de ovocitos maduros, observándose en algunas de estas hembras indicios de la primera ovulación, es decir, el proceso que involucra la liberación del ovocito completamente desarrollado del folículo basal de la ovariola, la ruptura del tapón epitelial, el ingreso al pedicelo y el paso hacia la luz del extremo distal del oviducto lateral (Chapman, 1969). En los ovarios de estas hembras, se observó un escaso número de ovariolas que contenían en su base grandes vacuolas cargadas de pigmentos amarillos, producto de la acumulación de lípidos por la reabsorción de ovocitos anormales. Estos restos de folículos corresponden a los cuerpos de reabsorción mencionados para otras especies de Acrididae como *Anacridium aegyptium* (Colombo, 1957), *Locusta migratoria migratorioides* y *Schistocerca gregaria* (Singh, 1958; Lusis, 1963; Uvarov, 1966; Chapman, 1969).

En algunas hembras de 30 días Imago de *Baeacris punctulatus*, el extremo proximal de la ovariola mostraba un ovocito primario en el estadio vitelogénico III y un cuerpo lúteo reducido producto de la primera ovulación, lo que indicaría que en estas hembras, se estaba por producir una segunda ovulación. La estructura histológica del cuerpo lúteo observada en las hembras de esta especie coincide con la descripta por Uvarov (1966), Chapman (1969), Sahai y Banerjee

(1987) y Büning (1994), para diferentes grupos de insectos.

Mediante las observaciones realizadas en hembras de 15 a 30 días de vida adulta de *Baeacris punctulatus*, se determinó que en esta especie como en el resto de los Orthoptera (Uvarov, 1966; Chapman, 1969), todas las ovariolas ovulan simultáneamente; siendo *Anacridium aegyptium* (Colombo, 1955) la única especie de Acrididae en la cual se determinó que las ovariolas de un mismo ovario ovulan en tiempos diferentes. La maduración y ovulación simultánea de los ovocitos en todas las ovariolas de estas hembras, sumado a la escasa cantidad de ovocitos anormales que en ellas se producen cuando las hembras son mantenidas en condiciones óptimas para el desarrollo, son indicios de la gran capacidad reproductiva de la especie *Baeacris punctulatus*.

En esta especie como en *Melanoplus differentialis* (Nelsen, 1934), después de la ovulación, los ovocitos son almacenados en la región distal y media de los oviductos laterales con el área micropilar dirigida hacia el extremo posterior del abdomen, observándose en *Baeacris punctulatus* una modificación del espesor y la coloración de las capas externas e internas del corion de estos ovocitos. Según observaciones realizadas en estudios previos por Michel y Terán (2005), estas modificaciones del corion son producidas por la secreción proteica que sintetizan las células epiteliales de la región distal y media de estos conductos. En hembras de 15 a 30 días de imago, la cantidad de ovocitos almacenados en los oviductos laterales fue menor al número de cuerpos lúteos observados en el ovario y esto sumado al hecho de no haber encontrado ovocitos durante su trayecto por el oviducto medio y la cámara genital, indicarían que en *Baeacris punctulatus* el descenso de los ovocitos maduros a través de los oviductos, la fecundación y posterior eliminación de la cámara genital se produce en sucesivas etapas hasta completar el desove durante la ovoposición.

Aunque en *Baeacris punctulatus* no se pudo observar la etapa de maduración ovocitaria en la cual se produce la ovulación, las características de la vesícula germinal de ovocitos del segundo estadio de vitelogénesis nos permite inferir que en esta especie, como en los restantes insectos (Bonhag, 1958; Chapman, 1969; Büning, 1994; Albert *et al*., 2004), los ovocitos son ovulados en la metafase de la primera división de maduración, estadio en el cual se produciría la segunda detención de la meiosis hasta su fecundación en la cámara genital de la hembra.

En *Baeacris punctulatus*, la posición de los ovocitos en el oviducto lateral después de la ovulación, indicaría que al ingresar éstos a la cámara genital de la hembra se ubicarían dentro de la dilatación dorsal, región descripta en estudios previos por Michel y Terán (2005), con el micrópilo en contacto directo con la abertura del conducto espermatecal. En esta especie, como en otros insectos (Gillot, 1980; Conn, 1993; Albert *et al*., 2004), esta orientación del ovocito facilitará la penetración del esperma durante la fecundación. Una vez producido el impacto espermático, se reanudará la meiosis y desde su eliminación de la cámara genital hasta completar la ovoposición, el ovocito se transformará en un óvulo maduro tras lo cual podría producirse la anfimixis. Según estudios previos (Michel y Teisaire, 1996), en *B. punctulatus*, la unión de los pronucleos se produce después de la puesta, ya que en esta especie el primordio embriónico es visible recién 48 horas después de la puesta.

Los resultados obtenidos en este trabajo indicarían que la hembra de *Baeacris punctulatus*, bajo condiciones controladas de laboratorio, alcanza la madurez sexual entre los 15 y 25 días del imago, período en el cual los ovocitos completan su desarrollo en el ovario y se produce la primera ovulación. Estos resultados se corresponden con las observaciones de cría y con los estudios de morfogénesis, en los cuales se establece que entre los 15 y 25 días después de la muda imaginal, se completa el desarrollo de los órganos reproductores de la hembra, hay una intensa actividad secretora en las glándulas accesorias y en los oviductos laterales, y se producen las primeras ovoposiciones (Michel, 2001; Michel y Terán, 2006).

Según Turk y Barrera (1979), en *Dichroplus punctulatus* (=*Baeacris punctulatus*) la madurez sexual en ambos sexos se alcanza con la primera cópula a los 10 días de vida adulta. Considerando los resultados obtenidos en este trabajo y los conceptos de madurez sexual establecidos por Uvarov (1966) y Gillot (1980), tanto para Orthoptera como para otros insectos, en *Baeacris punctulatus*, la primera cópula (que en condiciones óptimas para el desarrollo se produce entre las 48 horas y 12 días de la muda imaginal), es un indicio de la madurez sexual solo en el macho, ya que entre los 5 y 10 días después de la muda imaginal del macho, se completa el proceso de morfogénesis de los órganos reproductores y la espermatogénesis en los testículos produciéndose abundantes espermatozoides que se liberan a los conductos deferentes y se almacenan en las vesículas seminales. Además en este período, las glándulas accesorias del macho están completamente diferenciadas y producen abundante secreción, que permitirá la formación del espermatóforo durante la cópula (Michel, 2001; 2007).

La información aportada en este trabajo contribuye a un mejor conocimiento del desarrollo y la reproducción de *Baeacris punctulatus*, lo cual será de utilidad para la aplicación de métodos de control de los Melanoplinae de importancia económica para la Argentina.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se basa en parte de los resultados obtenidos en mi Tesis Doctoral, por lo que quiero agradecer a mi director de tesis, el Dr. Héctor R. Terán. Agradezco también al Consejo de Investigación de la Universidad Nacional de Tucumán, por el apoyo efectuado durante la realización de la misma.

LITERATURA CITADA

Albert, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K y Watson, J. D. 2004. Biología Molecular de la Célula. Omega, S.A. Barcelona, 1387 pp.

Bentos Pereira, A. 1989. Distribución geográfica de las especies del género *Dichroplus* Stal (Orthoptera, Acrididae, Melanoplinae). Revista Brasilera de Entomología, 33(1): 31-47.

Bonhag, P. F. 1958. Ovarian structure and vitellogenesis in insects. Annual Review of Entomology, 3: 137-160.

Büning, J. 1994. The insect ovary: Ultrastucture, previtellogenic growth and evolution. Chapman y Hall, London, 400 pp.

Carbonell, C. S. y Ronderos, R. A. 1973. Las especies del grupo *punctulatus* del género *Dichropus* Stal (Orthoptera, Acrididae). Revista del Museo de La Plata, 11: 359-398.

Chapman, R. F. 1969. The Insects, Structure and Function. Elsevier, New York, 819 pp.

Colombo, G. 1953. L'oogenesi negli Ortotteri: I. Ricerche istologiche e citometriche in *Anacridium aegyptium* L. dalla schiusa all'imagine. Acta Zoologica, Stockholm, 34: 191-232.

Colombo, G. 1955. L'oogenesis negli Ortotteri. II. Ricerche sull accrescimento degli oociti di *Anacridium aegyptium* L. Archivio Zoologico Italiano, Napoli, 40: 235-263.

Colombo, G. y Bassato, M. 1957. La differenziazione delle gonadi negli embrioni della cavallette. Ricerche istologiche su embrioni di *Anacridium aegyptium* L. (Orthoptera, Acridoidea). Bollettino di Zoologia, 24: 275-285.

Conn, D. B. 1993. Atlas of Invertebrate Reproduction and Development. Wiley-Liss, New York, 252 pp.

Cruz-Landim, C. 1994. Ultrastructural studies on the spermatogenesis of *Conocephalus saltator* (Saussure). (Orthoptera, Conocephalidae): citoplasm elimination from spermatid. Revista Do Centro De Ciencias Biomedicas Da Universidade Federal de Uberlandia, 10(1): 21-28.

Ferreira, A. V. S., Wanderley-Teixeira, V., Santos, F. A. B., Veiga, A. F. S. L. y Teixeira, A. A. C. 2006. Histologia do aparelho reprodutor masculino e morfometria da população celular dos folículos testiculares de *Chromacris speciosa* (Thunberg, 1824) (Orthoptera: Romaleidae) submetido a três fotoperíodos. Arquivos Instituto de Biología, Sao Paulo, 73(3): 349-355.

Gallois, D. 1979a. Données chronologiques sur la morphogénese de l'appareil génital femelle de *Locusta migratoria migratorioides* (R. et F.) (Orthoptera, Acrididae). Acrida, 8(3): 117-131.

Gallois, D. 1979b. Etude chronologique de l'organogénese de l'appareil génital mâle chez *Locusta migratoria migratorioides* (R. et F.) (Orthoptera, Acrididae). Bulletin Biologique de la France et de la Belgique, 113: 31-51.

Gillot. C. 1980. Entomology. Plenum Press, New York (USA), 729 pp.

Hopkins, C. R. 1964. The histochemistry and fine structure of the accessory nuclei in *Bombus terrestris*. Quarterly Journal Microscopical Science, 105: 475-480.

Humason, G. L. 1979. Animal Tissue Techniques. W. H. Freeman and Company-San Francisco, 661 pp.

Karp, G. 1987. Biología Celular. McGraw-Hill, 950 pp.

Lange, C. E. 2002. Foro. El desarrollo de *Nosema locustae* (Protozoa: Microsporidia) para el control biológico de tucuras (Orthoptera: Acridoidea) y las consecuencias de su utilización en la Argentina. Revista Sociedad Entomológica Argentina, 61(1-2): 1-9.

Lange, C. E. 2003. Niveles de esporulación experimentales y naturales de *Nosema locustae* (Microsporidia) en especies de tucuras y langostas (Orthoptera: Acridoidea) de la Argentina. Revista Sociedad Entomológica Argentina, 62(1-2): 15-22.

Liebermann, J. y Schiuma, R. 1946. Las «tucuras» más perjudiciales de nuestra agricultura y ganadería. Publicación Instituto Sanidad Vegetal, año II, ser. B, 7:1-62.

Lusis, O. 1963. The histology and histochemistry of development and resortion in the terminal oocytes of the desert locust, *Schistocerca gregaria*. Quarterly Journal of Microscopical Science, 104:57-68.

Michel, A. A. 2001. Morfogénesis del sistema reproductor y gametogénesis en *Baeacris punctulatus* (Thunberg) (Orthoptera, Acrididae). Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Tucumán, 310 pp.

Michel, A. A. 2007. Aspectos histológicos sobre el desarrollo del testículo y la espermatogénesis en *Baeacris punctulatus* (Orthoptera, Acrididae, Melanoplinae). Acta Zoológica Lilloana, 51(1): 67-85.

Michel, A. A. y Teisaire, E. S. 1996. Cronología del desarrollo embrionario normal de *Baeacris punctulatus* (Thunberg) (Orthoptera, Acrididae). Revista Chilena de Entomología, 23: 29-41.

Michel, A. A. y Terán, H. R. 2005. Análisis morfológico del sistema reproductor femenino de *Baeacris punctulatus* (Thunberg) (Orthoptera: Acrididae: Melanoplinae). Revista Sociedad Entomológica Argentina, 64(3): 107-117.

Michel, A. A. y Terán, H. R. 2006. Cría en cautiverio de *Baeacris punctulatus* (Thunberg) (Orthoptera, Acrididae, Melanoplinae). Acta Zoológica Lilloana, 50(1-2): 131-134.

Nelsen, O. E. 1934. The development of the ovary in the grass-hopper, *Melanoplus differentialis* (Acrididae, Orthoptera). Journal of Morphology, 55: 515-43.

Nieto Nafria, J. M. y Mier Durante, M. P. 1985. Tratado de Entomología. Omega S.A., 599 pp.

Ronderos, R. y Cigliano, M. M. 1991. The Andean Dichoplini: cladistic analysis with description of *Keyacris* n. gen. and *Ponderacris* n. gen. (Orthoptera, Acrididae, Melanoplinae). Transactions of the American Entomological Society, 117(3-4): 167-191.

Roonwal, M. L. 1937. Studies on the embryology of the African migratory locust, *Locusta migratoria migratorioides* Reiche and Frm. (Orthoptera, Acrididae). II Organogeny. Philosophical transactions of the Royal Society of London, Serie B, 227: 175-244.

Sahai, Y. N. 1984. Histochemical studies of oocyte development in *Poecilocerus pictus* Fabr. Folia Morphologica, 32(2): 160-170.

Sahai, Y. N. y Banerjee, S. 1987. Histological and Cytological studies of development of the oocyte of *Poecilocerus pictus* Fabr. (Acrididae,Orthoptera). Folia Morphologica, 35(2): 182-193.

Santos, F. D., Veiga, A. F. S. L., Alves, L. C., Wanderley-Teixeira, V. y Teixeira A. A. C. 2006. Aspectos histológicos do aparelho reproductor femenino e morfometria dos ovários de *Tropidacris collaris (Stoll, 1813)* (Orthoptera: Romaleidae) submetido a trés fotoperíodos. Arquivos do Instituto Biologico, Sao Paulo, 73(3): 343-348.

Saxena, R. C., Jain, S., Saxena, A. y Sahai, Y. N. 1988. Towards the contribution of follicular epitelium in the growing oocyte of *Poecilocerus pictus* (Orthoptera). A cytochemical study. Beitrage Zur Entomologie, 38(1): 229-231.

Singh, T. 1958. Ovulation and corpus luteum formation in *Locusta migratoria migratorioides* Reiche and Fairmaire and *Schistocerca gregaria* (Forskal). Transactions of the Royal Entomological Society of London, 110: 1-20.

Turk, S. y Barrera, M. 1979. Acrididos del NOA III. Estudio bio-ecológico sobre siete especies del género *Dichroplus* Stal. (Orthoptera, Acrididae). Acta Zoológica Lilloana, 35: 785-805.

Uvarov, B. 1966. Grassohoppers and Locusts. A Handbook of General Acridology. Cambridge University Press, vol 1, 481 pp.

Villeco, E. I. 1998. Ovogénesis en anfibios: Interacciones celulares. Tesis Doctoral, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, 125 pp.

Ver tablas 1 y 2 en páginas ss.

Estadios del desarrollo	**Regiones de la ovariola**	**Tipos celulares**	**Estadios y subestadios de la ovogénesis**	**Nº de células**
Embrionario X	*Germario*	Ovogonias	Interfase	6
		Preovocitos	Interfase premeiótica	4
Embrionario XI	*Germario*	Ovogonias	Interfase Profase Metafase	10
		Preovocitos	Interfase premeiótica	4
		Ovocitos primarios "primer periodo de crecimiento"	Preleptonema Leptonema Cigonema	4 a 6
Ninfal I	*Germario*	Ovogonias	Interfase	14 a 20
		Preovocitos	Interfase premeiotica	2
		Ovocitos primarios "primer periodo creci-miento"	Preleptonema Leptonema Cigonema	6 a 8
			Paquinema inicial	2
			Paquinema vanzadado	2
Ninfal II	*Germario*	Ovogonias	Interfase Profase Prometafase Metafase	30
		Ovocitos primarios "primer periodo de crecimiento"	Preleptonema Leptonema Cigonema Paquinema inicial Paquinema avanzado	8 a 10
	Vitelario	Ovocitos primarios "segundo periodo de crecimiento"	Postpaquinema	5 a 6
Ninfal III	*Germario*	Ovogonias	Interfase	30
		Ovocitos primarios "primer periodo de crecimiento"	Preleptonema Leptonema Cigonema Paquinema inicial Paquinema avanzado	8 a 10
	Vitelario	Ovocitos primarios "segundo periodo de crecimiento"	Postpaquinema	2 a 3
			Diplonema: previtelogénico I	4 a 8

Tabla 1 (continúa en págs ss). Regiones de la ovariola y estadios de la ovogénesis durante el desarrollo embrionario, postembrionario y el imago de *Baeacris punctulatus.*

Estadios del desarrollo	Regiones de la ovariola	Tipos celulares	Estadios y subestadios de la ovogénesis	Nº de células
Ninfal IV	*Germario*	Ovogonias	Interfase Profase Metafase	35
		Ovocitos primarios "primer periodo de crecimiento"	Preleptonema Leptonema Paquinema inicial Paquinema avanzado	1 3 2 3
	Vitelario	Ovocitos primarios "segundo periodo de crecimiento"	Postpaquinema Diplonema: previtelogénico I previtelogénico II	3 a 4 8 a 10 4 a 5
Ninfal V	*Germario*	Ovogonias	Interfase Profase	12 a 14
		Ovocitos primarios "primer periodo de crecimiento"	Preleptonema Leptonema Paquinema	6 a 8 3 a 4
	Vitelario	Ovocito primario "segundo periodo de crecimiento"	Postpaquinema Diplonema: previtelogenico I previtelogénico II previtelogénico III	3 a 4 8 4 3 a 4
Imago de 24 a 72 horas	*Germario*	Ovogonias	Interfase	5
		Ovocitos primarios "primer periodo de crecimiento"	Leptonema Paquinema	2 a 3 4 a 5
	Vitelario	Ovocitos primarios "segundo periodo de crecimiento"	Postpaquinema Diplonema: previtelogénico I previtelogénico II previtelogénico III previtelogenico IV	3 a 4 14 4
Imago 5 días	*Germario*	Ovogonias	Interfase	5
		Ovocitos primarios "primer periodo de crecimiento"	Leptonema Paquinema	2 a 3 4 a 5
	Vitelario	Ovocitos primarios "segundo periodo de crecimiento"	Postpaquinema Diplonema: previtelogénico I previtelogénico II previtelogénico III previtelogenico IV	3 a 4 14 4
		Ovocitos primarios "tercer periodo de crecimiento"	Diplonema: vitelogénico I	1

Estadios del desarrollo	**Regiones de la ovariola**	**Tipos celulares**	**Estadios y subestadios de la ovogénesis**	**Nº de células**
Imago 10 días	*Germario*	Ovogonias	Interfase	5
		Ovocitos primarios "primer periodo de crecimiento"	Leptonema	2 a 3
			Paquinema	4 a 5
	Vitelario	Ovocitos primarios "segundo periodo de crecimiento"	Postpaquinema	3 a 4
			Diplonema:	
			previtelogénico I	
			previtelogénico II	14
			previtelogénico III	
			previtelogenico IV	4
		Ovocitos primarios "tercer periodo de crecimiento"	Diplonema:	
			vitelogénico I	1
			vitelogénico IIa	1
			vitelogénico IIb	1
Imago 12 días	*Germario*	Ovogonias	Interfase	5
		Ovocitos primarios "primer periodo de crecimiento"	Leptonema	2 a 3
			Paquinema	4 a 5
	Vitelario	Ovocitos primarios "segundo periodo de crecimiento"	Postpaquinema	3 a 4
			Diplonema:	
			previtelogénico I	
			previtelogénico II	14
			previtelogénico III	
			previtelogenico IV	4
		Ovocitos primarios "tercer periodo de crecimiento"	Diplonema:	
			vitelogénico I	1
			vitelogénico IIa	1
			vitelogénico IIb	1
			vitelogénico IIIa	1
Imago 14 días	*Germario*	Ovogonias	Interfase	5
		Ovocitos primarios "primer periodo de crecimiento"	Leptonema	2 a 3
			Paquinema	4 a 5
	Vitelario	Ovocitos primarios "segundo periodo de crecimiento"	Postpaquinema	3 a 4
			Diplonema:	
			previtelogénico I	
			previtelogénico II	14
			previtelogénico III	
			previtelogenico IV	4
		Ovocitos primarios "tercer periodo de crecimiento"	Diplonema:	
			vitelogénico I	1
			vitelogénico IIa	1
			vitelogénico IIb	1
			vitelogénico IIIb	1

Estadios del desarrollo	Regiones de la ovariola	Tipos celulares	Estadios y subestadios de la ovogénesis	Nº de células
Imago 15 a 25 días	*Germario*	Ovogonias	Interfase	5
		Ovocitos primarios "primer periodo de crecimiento"	Leptonema	2 a 3
			Paquinema	4 a 5
	Vitelario	Ovocitos primarios "segundo periodo de crecimiento"	Postpaquinema	3 a 4
			Diplonema: previtelogénico I, previtelogénico II, previtelogénico III	14
			previtelogenico IV	4
		Ovocitos primarios "tercer periodo de crecimiento"	Diplonema: vitelogénico I	1
			vitelogénico IIa	1
			vitelogénico IIb	1
			"cuerpo luteo 1"	1
Imago 30 días	*Germario*	Ovogonias	Interfase	5
		Ovocitos primarios "primer periodo de crecimiento"	Leptonema	2 a 3
			Paquinema	4 a 5
	Vitelario	Ovocitos primarios "segundo periodo de crecimiento"	Postpaquinema	3 a 4
			Diplonema: previtelogénico I, previtelogénico II, previtelogénico III	14
			previtelogenico IV	4
		Ovocitos primarios "tercer periodo de crecimiento"	Diplonema: vitelogénico I	1
			vitelogénico IIa	1
			vitelogénico IIb	1
			vitelogénico IIIa	1
			"cuerpo luteo 1"	1

Tabla 1 (continuación y final). Regiones de la ovariola y estadios de la ovogénesis durante el desarrollo embrionario, postembrionario y el imago de *Baeacris punctulatus.*

Estadios del ovocito	Cantidad, forma y medida	Vesícula germinal	Ooplasma	Folículo ovárico
Previtelogénico I	4 a 8 ovocitos cúbicos a esféricos con un Ø mayor de 30 a 72 µm.	Ø 21 a 36 µm, de contornos lisos, en posición central, cromatina en finas hebras y abundantes cromómeros, 4 a 8 "cuerpos proteinosos", 2 a 3 macronucleolos y numerosos micronucleolos.	Granular basófilo intenso a moderado, con pequeños gránulos acidófilos próximos a la envoltura nuclear.	Epitelio simple constituído por 4 a 8 células aplanadas, con núcleos fuertemente basófilos y citoplasma levemente basófilo.
Previtelogénico II	5 ovocitos ligeramente ovoides con un Ø mayor de 72 a 210 µm	Ø 42 a 54 µm, en posición central, envoltura nuclear fuertemente basófila, mayor cantidad de cromatina en hebras y cromómeros, 11 "cuerpos proteinosos" y 2 a 3 micronucleolos.	Granular levemente basófilo, con escasos gránulos fuertemente acidófilos próximos a la envoltura nuclear.	Epitelio simple con 10 a 26 células de características idénticas al estadio I.
Previtelogénico III	3 a 4 ovocitos alargados con un Ø mayor de 222 a 288 µm.	Ø 60 µm, ligeramente desplazada hacia el extremo posterior del ovocito, cromatina completamente desespiralizada, 6 a 7 "cuerpos proteinosos" y 3 a 4 nucleolos granulares fuertemente acidófilos.	Con finas y abundantes granulaciones levemente basófilas, en la región perinuclear pequeños gránulos fuertemente acidófilos y 1 o 2 "núcleos accesorios".	Epitelio simple con 45 a 65 células cúbicas, núcleos esféricos con cromatina condensada en gránulos gruesos y finos, escaso citoplasma basófilo finamente granular.
Previtelogénico IV	4 ovocitos alargados y ligeramente ovoides con un Ø mayor de 312 a 468 µm.	Ø 66 a 72 µm, de contornos lisos y ubicada en el extremo posterior del ovocito, cromatina igual al estadio anterior, los "cuerpos proteinosos" se presentan como grandes acúmulos basófilos en el centro de la misma 2 macronucleolos, compactos y centrales, micronucleolos numerosos junto a la cara interna de la envoltura.	Con finas granulaciones acidófilas y escasas plaquetas vitelinas en la región periférica y "núcleos accesorios" en número variable próximos a la vesícula germinal.	Epitelio simple, con células cilíndricas bajas, núcleos esféricos con cromatina en gránulos gruesos y separados, citoplasma granular basófilo.
Vitelogenico I	un ovocito alargado con un Ø mayor de 540 a 594 µm	Ø igual al anterior, de contorno liso y ubicada en el extremo posterior, cromatina en finas hebras y cromómeros que cubren completamente el jugo nuclear y numerosos micronucleolos fuertemente acidófilos.	Con finas granulaciones acidófilas y numerosas plaquetas vitelinas solo en la periferia del mismo. Rodeando al ovocito una delgada envoltura vitelina con finas granulaciones fuertemente acidófilas.	Epitelio simple con células cilíndricas altas, núcleos ovoides en posición basal, cromatina en gránulos gruesos y separados, citoplasma con finas granulaciones basófilas, lámina basal del epitelio fuertemente acidófila.

Tabla 2. Características del ovocito primario en los estadios de previtelogénesis y vitelogénesis de *Baeacris punctulatus*

Estadios del ovocito	Cantidad, forma y medida	Vesícula germinal	Ooplasma	Folículo ovárico
Vitelogénico IIa	1 ovocito alargado, con un Ø mayor en el límite inferior del rango 697,82 µm a 1,5 mm	Ø igual al anterior, contorno liso, cromatina en finas hebras y el resto en gránulos fuertemente basófilos que forman acúmulos en el centro, 6 micronucleolos centrales, envoltura nuclear fuertemente basófila.	Con finas granulaciones acidófilas y abundantes plaquetas vitelinas de diferentes diámetros y fuertemente acidófilas.	Epitelio simple, células cilíndricas altas en forma de botella, con grandes núcleos ovoides basales y fuertemente basófilos, cromatina en gránulos gruesos, citoplasma alrededor del núcleo con finas granulaciones basófilas y en la región apical fuertemente basófilo. Lamina basal con una capa interna de fibras colágenas y una externa de fibras elásticas.
Vitelogénico IIb	1 ovocito alargado, con un Ø mayor en el límite superior del rango 697,82 µm a 1,5 mm.	Mayor cantidad de cromatina condensada, envoltura nuclear ondulada, fragmentada en algunos puntos y con finos gránulos en la cara interna y externa de la misma.	Con plaquetas vitelinas de mayor diámetro y en mayor proporción que en el estadio IIa.	Igual al anterior, pero con imagen negativa del golgi en la región supranuclear. Lámina basal igual al anterior.
Vitelogénico IIIa	1 ovocito alargado con un Ø mayor de 2,640 a 3,360 mm.	No es visible.	Completamente cargado de plaquetas vitelinas, quedando una delgada franja de citoplasma con finas granulaciones acidófilas en la periferia del ovocito, en la cual se ubican gránulos corticales de diferente diámetro. Envoltura vitelina homogénea levemente acidófila.	Epitelio simple con células cúbicas con núcleos esféricos basales, cromatina en gránulos finos y 1 o 2 nucleolos acidófilos, citoplasma granular fuertemente basófilo; células cilíndricas en la región micropilar, con núcleos esféricos basales con cromatina en gránulos finos, 1 o 2 nucleolos y citoplasma vacuolar basófilo.
Vitelogénico IIIb	Igual al anterior.	Igual al anterior.	Igual al anterior, pero recubiertos externamente por un delgado corion fuertemente acidófilo.	Epitelio simple con células cúbicas bajas, con núcleos esféricos comprimidos sobre la membrana basal, cromatina condensada en gránulos gruesos y separados, citoplasma apical con finas granulaciones basófilas.

Tabla 2 (continuación y final). Características del ovocito primario en los estadios de previtelogénesis y vitelogénesis de *Baeacris punctulatus*